

GESTION AGROECOLOGIQUE DU FLETRISSEMENT BACTERIEN :

EVALUATION DU POTENTIEL ASSAINISSANT DE 6
ESPECES VEGETALES VIS-A-VIS DU FLETRISSEMENT
BACTERIEN DE LA TOMATE (*RALSTONIA
SOLANACEARUM*), EN CONDITIONS SEMI-
CONTROLEES (SERRE)

Marie Ange LEBAS

Rapport de stage d'année interstitielle au sein du PRAM: Septembre-Décembre
2010

Maître de stage : **Péninna DEBERDT**

Enseignant tuteur : **Didier MICHOT**



INTRODUCTION.....	4
PARTIE 1 : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE : LA FILIERE AGRICOLE DE TOMATES EN MARTINIQUE, L AGENT DU FLETRISSEMENT BACTERIEN, LES NEMATODES A GALLES ET LES PLANTES DE SERVICES	5
I] LA FILIERE AGRICOLE EN MARTINIQUE	6
1) LES DIFFERENTES PRODUCTIONS AGRICOLES	6
2) L'ECONOMIE AGRICOLE.....	7
3) LA CULTURE DE TOMATE.....	7
II] RALSTONIA SOLANACEARUM, AGENT DU FLETRISSEMENT BACTERIEN	8
1) ORIGINE ET AIRE DE REPARTITION GEOGRAPHIQUE	8
2) ASPECTS GENETIQUES	9
3) LA SOUCHE ETUDIEE : SOUCHE APPARTENANT A LA POPULATION « EMERGENTE » DE <i>R. SOLANACEARUM</i> (PHYLOTYPÉII/SEQUEVAR IIB/4NPB)	10
4) EPIDEMIOLOGIE DU FLETRISSEMENT BACTERIEN	10
a. Les statuts relatifs d'hôtes de <i>R. solanacearum</i>	10
b. Les différents modes de propagation de <i>R. solanacearum</i>	11
c. Les symptômes du flétrissement bactérien.....	11
d. Survie de la bactérie <i>R. solanacearum</i> en conditions défavorables	12
e. Facteurs influençant la propagation de la bactérie <i>R. solanacearum</i>	12
6) ENJEUX DE LA RECHERCHE : LE MARCHE LOCAL ET LE RISQUE D'INTRODUCTION DE LA MALADIE DE MOKO	14
7) ASPECTS REGLEMENTAIRES.....	14
III] LES NEMATODES A GALLES DU GENRE MELOIDOGYNE : SECOND PATHOGENE MAJEUR DES CULTURES DE SOLANACEES.....	15
IV] LES PLANTES DE SERVICES A POTENTIEL ASSAINISSANT.....	16
1) LES PLANTES DE SERVICE : PLANTES DE COUVERTURE OU ENGRAIS VERTS	16
2) INTERET DES PLANTES DE SERVICE EN CULTURES MARAICHIERES DANS LA GESTION AGROECOLOGIQUE DU FLETRISSEMENT BACTERIEN.....	17
3) LE CONCEPT DE LA BIOFUMIGATION	19
4) DESCRIPTION DES PLANTES DE SERVICE DE NOTRE ETUDE	20
a. Choix des 6 plantes de service à tester.....	20
b. Description des plantes de services de choix à tester dans notre étude	22
i. Cas de l'œillet d'Inde (<i>Tagetes patula</i>).....	22
ii. Cas des Crotalaires (<i>Crotalaria juncea</i> et <i>Crotalaria spectabilis</i>).....	24
iii. Cas du Pois Mascate (<i>Mucuna deeringiana</i>).....	27
iv. Cas du radis fourrager (<i>Raphanus sativus</i>).....	28
v. Cas de l'oignon péyi (<i>Allium fistulosum</i>).....	30
PARTIE 2 : EXPERIMENTATION EN SERRE	34
1) ETUDES PREALABLES EN CHAMBRE CLIMATIQUE	36
a. Comparaison de la sensibilité de deux variétés de tomate à Rs à trois niveaux d'inoculum	36
b. Evaluation du potentiel infectieux de la bactérie selon le facteur scarification et le facteur inoculation.....	36
2) METHODOLOGIE	37
a. Matériel.....	37
i. Le sol : sol naturellement infesté de Rivière Lézarde.....	37
ii. Les plants de tomates	37
iii. Les plantes de services.....	38
b. Dispositif expérimental.....	38
i. Les différents traitements	38
ii. Organisation des bacs et dates de prélèvement (Annexe I)	40
3) RELEVES DE DONNEES	41
a. Suivi de l'épidémiologie du flétrissement bactérien	41
b. Isolement qualitatif de la bactérie sur plants de tomate.....	42
c. Isolement de la bactérie et comptages des colonies sur les plantes de service et le témoin positif Tomate	43
4) RESULTATS.....	44

a. Suivi phytosanitaire sur les espèces à tester, au cours de la phase culturale.....	44
b. Suivi épidémiologique du flétrissement bactérien : détermination des indices de flétrissement bactérien, des indices de colonisation et de la sévérité de la maladie	46
i. Expérimentation en chambre climatique : effet de l'effet scarification et de l'effet inoculation artificielle	46
ii. Expérimentation en serre	47
➤ Cas des cycles longs (Expérimentation 1).....	48
* Evaluation du potentiel infectieux du sol au temps initial (jardinière N°1)	48
* Evaluation du statut hôte et du potentiel assainissant des plantes de service à la mi-phase culturale (jardinière N°2)	51
➤ Cas des cycles courts (Expérimentation 2)	61
* Evaluation du potentiel infectieux du sol au temps initial (jardinière N°1)	61
* Evaluation du statut hôte et du potentiel assainissant des plantes de service à la mi-phase culturale (jardinière N°2)	64
5) DISCUSSION	70
a. Comparaison des expériences menées en chambre climatique et en serre.....	70
b. Evaluation du potentiel infectieux de la bactérie	70
c. Effet des plantes de service.....	71
i. Cas des cycles longs (Expérimentation 1).....	71
ii. Cas des cycles courts (Expérimentation 2).....	73
ANNEXES.....	79
Liste des figures :.....	80
Liste des Tableaux :.....	82
Annexe 1 :BIBLIOGRAPHIE.....	84
Annexe 2 : Dates échantillonnage & transplantation.....	88

INTRODUCTION

L'intensification agricole des années 1950-1960 s'est faite en réponse à la demande croissante de la société en denrées alimentaires et à l'augmentation de la population mondiale. Ce système de production intensif a engendré l'utilisation massive de pesticides chimiques pour l'obtention de hauts rendements et d'un approvisionnement permanent en denrées alimentaires. Les préoccupations environnementales actuelles des politiques des pays occidentaux mais également des agriculteurs, ainsi que la prise de conscience de la toxicité des produits chimiques sur la santé animale et humaine, ont abouti à une réflexion nouvelle sur les itinéraires techniques dans les agrosystèmes. Ainsi, des méthodes alternatives à l'agrochimie sont à l'étude. Parmi elles, l'utilisation d'espèces végétales à potentiel assainissant, en rotation ou en association culturale, présente des avantages agronomiques tels que le maintien de la fertilité du sol (ainsi que l'augmentation de la biodiversité) tout en réduisant les populations d'agents pathogènes.

Actuellement, le flétrissement bactérien est l'une des principales maladies vasculaires d'origine tellurique qui cause des dégâts considérables sur de nombreuses cultures d'importance économique à travers le monde. En zones tropicale et subtropicale cette maladie sévit principalement sur cultures maraîchères. L'unité de recherche Hortosyst dans laquelle j'ai été accueillie développe deux axes de recherches : (i) «l'Agroécologie, Interactions et Régulations Biologiques dans les systèmes horticoles (Axe AIRB)» et (ii) «Evaluation et Conception de Systèmes horticoles (Axe ECOS)». Mon stage s'inscrit dans le cadre de l'Axe AIRB et le Projet ATP « OMEGA 3 » (Optimisation des Mécanismes Ecologiques de Gestion des bio-Agresseurs pour une Amélioration durable de la productivité des Agrosystèmes). Dans le cadre de ce stage, j'ai participé à une étude expérimentale ayant pour objectif l'évaluation du potentiel assainissant d'espèces végétales vis-à-vis du flétrissement bactérien (*Ralstonia solanacearum*) de la tomate.



**PARTIE 1 : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE : LA FILIERE
AGRICOLE DE TOMATES EN MARTINIQUE, L AGENT
DU FLETRISSEMENT BACTERIEN, LES NEMATODES A
GALLES ET LES PLANTES DE SERVICES**

I] La filière agricole en Martinique

1) Les différentes productions agricoles

Les principales espèces végétales cultivées en Martinique sont la banane (variété Cavendish) et la canne à sucre, destinées toutes deux à l'exportation (180 065T et 60 283T respectivement, en 2009, source Agreste). La production locale de bananes est exportée (à 98%) (source Iedom, 2007).

La diversification agricole vers d'autres cultures maraîchères (**Figure 1**) vouées au marché local représente une part non négligeable de la production agricole totale (44 052T en 2006). Hormis la culture des tubercules, les légumes frais représentaient près de 38 000T en 2006 dont les principaux légumes produits étaient le concombre (6 240T) et la tomate (4 536T). Entre 2008 et 2009, les surfaces cultivées et la production de légumes frais ont diminué respectivement, de 3% et 5.4% (source INSEE). En 2009, la production de fruits et de légumes a néanmoins atteint respectivement 9500t et 50 000t et couvrait 50% et 70% du marché local. La Martinique ne parvient donc pas encore à l'autosuffisance et des importations sont donc encore nécessaires (source INSEE). De plus, le développement et la pérennité de ces cultures doivent être étroitement assurés avec le contrôle des ravageurs et des maladies qui constituent le frein majeur des productions agricoles de l'île.

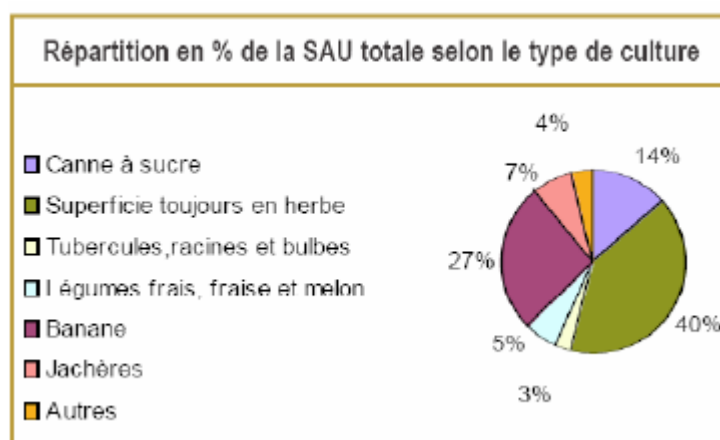


Figure 1 : La diversification agricole martiniquaise et les pourcentages en SAU des différentes cultures, source Agreste, 2005

2) L'économie agricole

Le secteur primaire occupe sur l'île une part très faible mais non négligeable (valeur ajoutée de 1.6% en 2007, activités de service 45%). La banane, principale culture d'exportation, génère 43% de la valeur ajoutée agricole (contre 4% pour la canne à sucre).

Malgré une diminution de la surface agricole au profit de l'urbanisation (38620 ha en 1989, 28188ha en 2005, source Agreste), l'agriculture martiniquaise occupe près de 30% de la surface totale de l'île, emploie 12% de la population active et occupe 6% du produit régional brut (source Agreste, 2005).

3) La culture de Tomate

La culture de la Tomate est pratiquée principalement dans la région Nord-Caraïbe de l'île, propice à l'installation des cultures maraîchères de par une humidité élevée (entre 2000mm et 6000mm par an) et la bonne qualité des sols (texture argilo-limoneuse à argileuse). La tomate a en effet besoin de 5 à 12mm d'eau pour un cycle de 5 mois (Enquête phytosanitaire, FREDON, 2006) La culture se pratique toute l'année sous serre mais aussi en plein champ. Les plants sont préalablement produits en pépinière à partir de semences certifiées. La récolte des fruits pouvant se faire 2 mois après la transplantation, certains agriculteurs peuvent effectuer 3 à 4 cycles par année, bien que ceci soit fortement déconseillé. En effet, la monoculture de Tomate en Martinique présente des inconvénients majeurs entraînant la fatigue des sols et ainsi la baisse de rendement et surtout une augmentation des maladies telluriques.

Après avoir connu une grave crise sanitaire liée aux sécheresses de 2004 et 2005, et à une saison des pluies excessive (mai et novembre 2004), la production de Tomate a chuté de 60% en 2004 atteignant près de 2000t (6 000T en 2003) (source DAF, 2006). Depuis, la production réaugmente progressivement (4 536T en 2006) même si les aléas climatiques influent toujours son rendement (3157T en 2007, après le passage du cyclone Dean). A l'heure actuelle, les problèmes phytosanitaires liés au flétrissement bactérien et aux bégomovirus transmis par l'aleurode du tabac (*Bemisia tabaci*) engendrent un climat défavorable à la production de

tomates, et donc une hausse des prix. La variété de tomate cultivée sur l'île est majoritairement la variété Heatmaster. Elle présente en effet une certaine tolérance vis-à-vis des souches appartenant à la population historique ainsi qu'une résistance aux nématodes à galles. Néanmoins, l'apparition et le déploiement rapide de la population émergente depuis 1999 ont entraîné des pertes de rendement considérables (jusqu'à 100%) qui s'expliquent par le contournement de la résistance variétale de Heatmaster par la population émergente de *R. solanacearum*.

D'après Bertrand Aumand (DAF), « Les prix auxquels les agriculteurs écoulent leurs productions sont très variables sur les 5 dernières années, ce qui donne peu de visibilité aux professionnels » (**Tableau 1**).

Production Tomate	2004	2005	2006	2007	2008
Prix au Kg (Euros)	1.73	1.75	1.80	2.31	1.45

Tableau 1 : Evolution des prix au kilo depuis 2004 (source FREDON)

II] *Ralstonia solanacearum*, agent du flétrissement bactérien

Ralstonia solanacearum est l'agent pathogène responsable du flétrissement bactérien.

L'agent *R. solanacearum* est réparti à travers le monde et est considéré comme l'un des agents pathogènes les plus importants sur cultures maraîchères de rente et vivrières. De nombreuses familles de plantes sont attaquées par cet agent pathogène, et plus particulièrement les Solanacées.

1) Origine et aire de répartition géographique

Ralstonia solanacearum est largement répandu dans les régions subtropicales, tropicales ainsi que les régions chaudes des climats tempérés.

Deux populations historiques sont présentes en Martinique : elles appartiennent au phylotype I et phylotype IIA et ont été décrites dans les années 60 (Digat and Escudié, 1967). En 1999, une population émergente a été mise en évidence sur l'anthurium ; puis en 2002-2003, cette population s'est propagée sur les cultures de cucurbitacées et solanacées. Actuellement, elle se répand rapidement dans toutes les zones de production maraîchère de l'île (**Figure 2**) et est particulièrement agressive sur cultures de tomates de plein champ (Analyse du risque phytosanitaire, Prior, 2003).

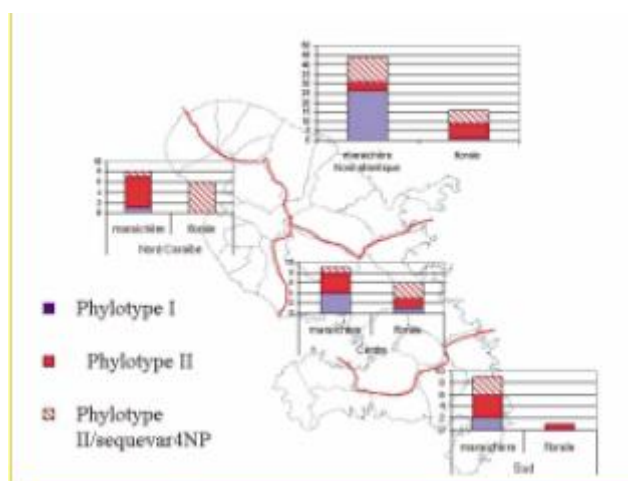


Figure 2 : Répartition des populations historiques (phylotypes I et II) et émergente (phylotype II/4NPB) de *Ralstonia solanacearum* en Martinique (Wicker, 2005)

2) Aspects génétiques

Sa diversité génétique et phénotypique atteste d'une grande plasticité génomique, ce qui lui a permis d'exercer des transferts génétiques horizontaux entre les souches. Ceci explique donc l'existence d'une large gamme d'hôtes de plus de 450 espèces regroupées dans 54 familles (aussi bien monocotylédones que dicotylédones).

Auparavant, la classification en races de cette bactérie s'était faite selon le spectre d'hôtes. Ainsi, il existe la race 1 ubiquiste dite aussi « race chaude », la race 3 dite « race froide », présente en Europe et qui affecte la pomme de terre et la tomate et la race 2 dite « race Moko » qui affecte le bananier.

Récemment, Fegan and Prior (2005) ont proposé une classification de *Ralstonia solanacearum*, basée sur l'analyse de séquence de la région ITS, du gène de l'endoglucanase (*egl*) et du gène HrpB de l'agent *R. solanacearum*. Quatre phylotypes ont été distingués. Le phylotype I contient les souches originaires d'Asie et appartient aux biovars 3, 4 et 5 ; le

- Les plantes hôtes sensibles dans lesquelles la bactérie se développe normalement et entraîne la mort. En Martinique, les plantes hôtes font généralement partie des familles des solanacées, des cucurbitacées et des musacées ;
- Les plantes hôtes latents qui hébergent la bactérie mais ne développent pas de symptômes visibles. Ce type d'hôte est problématique car la possibilité de propagation de la bactérie est accrue de part la présence de ces plantes porteuses saines (en générale des adventices) dans les parcelles.

b. Les différents modes de propagation de *R. solanacearum*

La propagation de la bactérie se fait par :

- **L'eau** : la maladie se répand facilement lors des épisodes pluvieux de la période d'hivernage (s'échelonnant de juin à février), mais aussi par les systèmes d'irrigation contaminés.
- **Les infestations primaires par les nématodes phytopathogènes** : la pénétration des bactéries est favorisée par les blessures présentes au niveau des racines, provoquées par notamment les nématodes à galles du genre *Meloidogyne*.
- **Le réseau racinaire de plantes contaminées** voisines aux plantes saines suffisamment proches.
- **Le même matériel agricole contaminé** utilisé dans un réseau de parcelles entraîne la propagation de la bactérie.
- **Le matériel végétal contaminé** (débris végétaux laissés en terre, adventices) : la bactérie peut en effet survivre dans un sol pendant 2-3 ans, sans mise en place d'une culture sensible en région tropicale, et au moins un an en Europe (Messiha *et al.* 2009). Elle peut se maintenir dans la rhizosphère des adventices-hôtes, dans les débris végétaux, dans les plantes-hôtes porteuses saines, à une profondeur de sol lui permettant une moindre concurrence avec les autres microorganismes.

c. Les symptômes du flétrissement bactérien

La bactérie tellurique colonise les racines de la plante pour rejoindre le réseau systémique de celle-ci via les vaisseaux du xylème. Les bactéries se multiplient dans les vaisseaux et

phylotype II contient les souches originaires des Amériques et appartient au biovar 1/race1, biovar 1/race2 (maladie de Moko), biovar 2/race3 et les souches de biovar 2T ; le phylotype III contient les souches originaires d'Afrique et de l'Océan Indien, qui appartiennent au biovar 1 et 2T ; le phylotype IV contient les souches originaires d'Indonésie, quelques souches du Japon, appartenant aux biovars 1, 2 et 2T. Chaque phylotype peut être ensuite subdivisé en sequevars sur la base de différences observées dans la séquence d'une portion du gène de l'endoglucanase (*egl*).

Cette classification proposée par Fegan and Prior (2005) est consistante avec les précédentes classifications. Elle apporte une information sur l'origine géographique et dans certains cas sur le pouvoir pathogène des souches de *R. solanacearum* (Wicker *et al.*, 2007).

3) La souche étudiée : souche appartenant à la population « émergente » de *R. solanacearum* (PhylotypeII/sequevar IIB/4NPB)

En 1999, les productions d'Anthurium et de Cucurbitacées à la Martinique ainsi que certaines adventices et espèces d'héliconias ont été fortement affectés par une nouvelle population de *R. solanacearum* appartenant au phylotype IIB/4NPB. Cette population, actuellement non pathogène sur bananier est génétiquement très proche des souches responsables de la maladie de Moko. En outre, elle se caractérise par l'acquisition rapide de nouveaux hôtes. En effet, jusqu'en 2002, on la trouvait exclusivement sur cultures d'Anthurium et de Cucurbitacées (exploitations de cantaloupes notamment), mais à partir de 2003, les souches du phylotype IIB/4NPB représentaient déjà 30% des isolats de *Ralstonia solanacearum* isolées sur cultures de solanacées. On constate actuellement une expansion massive et rapide de cette population émergente dans toute les zones de production maraîchère (Wicker *et al.*, 2009).

4) Epidémiologie du flétrissement bactérien

a. Les statuts relatifs d'hôtes de *R. solanacearum*

L'agent *Ralstonia solanacearum* possède deux types de plantes-hôtes

bloquent alors l'alimentation de la plante en eau et nutriments, ce qui a comme conséquence le flétrissement rapide et irréversible des jeunes feuilles, des feuilles adultes et enfin la mort de la plante. Les jeunes feuilles sont les premières à subir la chlorose et le flétrissement (**Figure 3**). Le ramollissement et le recourbement vers la base des feuilles (épinastie) peuvent être suivis de l'apparition de petites protubérances de racines avortées à la base des tiges.



Figure 3 : Plants de tomates atteints de flétrissement bactérien avec épinastie des feuilles (source PRPV)

d. Survie de la bactérie *R. solanacearum* en conditions défavorables

La bactérie peut survivre en conditions défavorables très différentes de son milieu de vie habituel qu'est le sol cultivé. Ainsi, l'eau, le sol nu, les plantes hôtes saines ou plantes « réservoirs », les débris végétaux sont autant de milieux permettant à la bactérie de survivre et de se propager par la suite. Il est donc quasiment impossible d'éradiquer la bactérie, si ce n'est la contrôler, une fois qu'elle est implantée dans une zone géographique (Prior, 2003).

e. Facteurs influençant la propagation de la bactérie *R. solanacearum*

Certains facteurs influençant la propagation de la bactérie peuvent être liés aux pratiques culturales :

- une trop forte densité de semis
- un mauvais drainage du sol impliquant la stagnation de l'eau

- la monoculture de Tomate en Martinique présente des inconvénients majeurs entraînant la fatigue des sols et ainsi la baisse de rendement et surtout une augmentation des maladies telluriques.
- aucune prophylaxie assurée (pas de désinfection des outils agricoles...)

D'autres facteurs influencent la propagation de la bactérie :

- Les différents types de sols

La répartition mondiale de la bactérie démontre que cet agent pathogène peut s'adapter à divers types de sols. Cependant, les sols sableux sont moins propices à son installation contrairement aux sols argileux et aux sols humides (Messiha N.A.S. *et al.*, 2009)

- La population de nématodes du genre *Meloidogyne*

Le genre *Meloidogyne* est considéré comme le plus problématique et le plus répandu des nématodes ravageurs des cultures maraîchères. En Martinique, c'est le deuxième agent pathogène sur Tomate, après l'agent *R. solanacearum*. Les femelles de *Meloidogyne* spp. perforent l'appareil racinaire pour y pondre à l'intérieur provoquant ainsi l'apparition de galles (**Figure 4**). L'entrée de la bactérie est alors favorisée dans la plante.



Figure 4 : Présence de galles sur l'appareil racinaire d'un plant de tomate (source, université de Liège)

- La répartition naturelle de la bactérie en climat tropical

Même si la bactérie est présente en climat tempéré, notamment en Europe (race 3 dite race « froide », attaquant la pomme de terre), l'hiver ne lui permet pas de se propager. Le climat tropical caractérisé par une forte humidité et une forte chaleur est très propice à son développement. De plus, ce type de climat permet la pratique des cultures en continu, ce qui n'incite pas les agriculteurs à la diversification des cultures.

6) Enjeux de la recherche : le marché local et le risque d'introduction de la maladie de Moko

Les recherches actuelles portées sur la nouvelle souche émergente sont primordiales. Tout d'abord, cette souche attaque une large gamme de plantes hôtes destinées au marché local (tomates, aubergines, poivron, giromon, melon...) et est génétiquement proche de celle attaquant le bananier responsable de la maladie de Moko. Dans les Petites Antilles, Cette dernière est présente à Trinidad-et-Tobago, à Grenade et à Saint-Vincent. Néanmoins, les échanges internationaux de matériel végétal avec l'Amérique du Sud ont permis sa répartition mondiale notamment aux Philippines, en Inde (Prior, 2003). En outre, la proximité géographique des Antilles et de la zone primaire d'infestation des bananiers que sont l'Amérique du Sud et l'Amérique Centrale démontre que le risque phytosanitaire est élevé. Enfin, la présence de plantes hôtes (bananiers, l'héliconia qui est l'hôte d'origine) ainsi que les conditions climatiques, qui sont similaires aux régions déjà infestées par cette population, favoriseraient l'installation et le développement des souches « Moko » sur la culture de bananier qui prédomine le paysage agricole martiniquais. Cette région des Antilles est donc à l'heure actuelle très surveillée.

7) Aspects réglementaires

Bien que la bactérie *Ralstonia solanacearum* soit largement répandue en régions tropicales et subtropicales, elle est répertoriée parmi les organismes de quarantaines OEPP (Organisation Européenne et méditerranéenne pour la Protection des Plantes). Pour la région OEPP, la race actuellement présente et qui possède un potentiel de dissémination est la race 3 car cette souche dite « à faible température » est adaptée aux climats plus frais des zones d'altitude des tropiques et du bassin méditerranéen. Sa présence a été signalée dans un certain nombre de pays européens dans les années 1990. La race 3 de *R. solanacearum* est en cours d'éradication partout dans l'UE ou les autres pays de l'OEPP.

Aux Etats-Unis *Ralstonia solanacearum* est répertoriée parmi les agents de bioterrorisme.

III] Les nématodes à galles du genre *Meloidogyne* : second pathogène majeur des cultures de solanacées

Les nématodes à galle constituent le 2nd agent tellurique majeur des cultures maraîchères en Martinique. Des études (Deberdt P. *et al.*, 1999, Cadet *et al.*, 1989) ont démontré une corrélation entre une importante population des nématodes à galle et une augmentation du flétrissement bactérien chez la Tomate. Ceci s'explique par le fait que ces nématodes induisent des blessures sur les racines des plantes et favorisent l'introduction de la bactérie phytopathogène.

Le genre *Meloidogyne* est présent partout sur le globe, notamment dans les régions chaudes des climats tempérés, dans les régions subtropicales et tropicales. Regroupant près de 5500 espèces, il est considéré comme le plus problématique et le plus répandu des nématodes ravageurs des cultures maraîchères (Djian-Caporalino *et al.* 2009). Les pertes économiques dues à ces nématodes sont conséquentes. Ainsi au Nigéria, 90-100% de la culture de solanacées peut être perdue. Aux Etats-Unis, en Georgie, les pertes peuvent s'évaluer à 45 millions de dollars par an (Montfort *et al.* 2007). Les symptômes ne sont pas spécifiques du genre. Ils incluent la perforation de l'appareil racinaire, la chlorose, le flétrissement et une sensibilité accrue à d'autres maladies.

Plusieurs méthodes de lutte alternatives à l'agrochimie existent parmi lesquelles la mise en jachère (de 6 à 12 mois), suivie de la transplantation de semis sains, la rotation culturale et l'incorporation d'amendements organiques. Cette dernière méthode peut jouer sur la diminution des populations de nématodes phytopathogènes :

- en stimulant la croissance de la plante et aussi le développement de populations prédateurs de ces nématodes grâce à la présence de N, P et K (Regnault-Roger *et al.* 2008).
- en émettant des composés nématocides pré-existants dans les amendements
- en générant des composés nématocides, comme certains acides gras (cas de l'acide butyrique qui, à une concentration de 8.8 g/kg sol, diminue la population de *Meloidogyne hapla* et *M. incognita* de 73-100%. Oka, 2010) ou encore de l'ammoniac (NH₃). Ces composés sont libérés lors de la dégradation de la matière organique.
- en améliorant ou en introduisant des microorganismes antagonistes (champignon, bactérie, collemboles, mites, protozoaires) dont les populations sont stimulées par

l'augmentation des nématodes pathogènes eux-mêmes influencés par l'incorporation de matière organique (Oka, 2010)

- en augmentant la tolérance et la résistance de la plante
- en induisant des changements dans la physiologie du sol, défavorables au développement des nématodes (Oka, 2010)

Lors des rotations culturales et des apports d'amendements organiques (après incorporation des plants dans le sol par exemple), il serait donc plus judicieux d'utiliser des plantes connues pour leur effet nématocide en tant que culture de couverture, et ensuite de les incorporer dans le sol comme amendement organique, plutôt que d'utiliser simplement des cultures non hôtes sans effet nématocide (Oka, 2010). D'autres facteurs sont également à prendre en compte dans le contrôle des nématodes comme la durée d'incorporation de la plante, sa sensibilité vis-à-vis du pathogène, la stabilité du composé nématocide dans le sol, le type de sol. Ce dernier facteur a toute son importance car plus un sol est léger et sableux, plus l'efficacité des composés sera grande. Un sol argileux sera enclin à absorber ces composés et à les inactiver, diminuant ainsi la possibilité de contrôler la population de nématodes.

IV] Les plantes de services à potentiel assainissant

1) Les plantes de service : plantes de couverture ou engrais verts

Les plantes de services peuvent être utilisées en tant que plantes de couverture ou engrais verts . Ce sont généralement des légumineuses ou des crucifères qui sont implantées avant la culture de rente. Elles sont bénéfiques pour le sol tant par leur effet de protection contre l'érosion, leur effet de fertilisation du sol via l'approvisionnement en matières organiques et leur effet sur le contrôle des agents pathogènes telluriques. Elles agissent aussi sur le contrôle des adventices et enfin, elles permettent une meilleure disponibilité en eau. Elles peuvent également être une ressource alimentaire et/ou fourragère.

Les plantes de couverture ou engrais verts présentent de nombreux avantages hormis ceux cités ci-dessus:

- Elles sont beaucoup plus rentables que les engrais chimiques et organiques (coûts de transports élevés)
- La diminution du coût de main d'œuvre et le gain de temps pour l'agriculteur est considérable (désherbage, diminution de la pression des ravageurs...)
- La fertilisation permanente du sol incite l'agriculteur à conserver sa parcelle et à y maintenir une culture tout au long de l'année.

2) Intérêt des plantes de service en cultures maraîchères dans la gestion agroécologique du flétrissement bactérien

Depuis les années 50, les producteurs maraîchers mondiaux ont utilisé des pesticides chimiques dangereux pour l'environnement et pour la santé humaine, mais qui étaient efficaces dans la lutte contre les bioagresseurs et qui n'exigeaient aucun changement dans la conduite de leur culture (Monfort, Breton 2009). Le bromure de méthyle a été interdit en 1992 lors du protocole de Montréal ; il a été progressivement éliminé mais peut être utilisé depuis 2005 en cas critique ; ce produit participe en effet à la destruction de la couche d'ozone. C'est un fumigant à large spectre, efficace aussi bien sur les champignons, les bactéries, les nématodes, les insectes et les mauvaises herbes (Monfort *et al.* 2007).

Il existe plusieurs moyens de lutter contre l'agent du flétrissement *R. solanacearum*. L'idéal étant de combiner ces diverses méthodes telles que :

- **L'emploi de variétés résistantes/tolérantes** (cas de la variété partiellement résistante Heatmaster, cultivée en Martinique)
- **La mise en place de jachères** pour réduire l'inoculum bactérien. Dans certains pays du Sud, il est souvent difficile d'avoir recours à la jachère, celle-ci entraînant forcément un manque à gagner à court terme pour l'agriculteur.
- **L'utilisation de matériels sains désinfectés**
- **L'apport d'amendements organiques (culture de couverture ou engrais verts).** Tout en fertilisant le sol, l'apport d'amendements organiques permet d'enrichir et de stimuler l'activité microbienne totale du sol et de favoriser ainsi les compétitions entre antagonistes et agents phytopathogènes (Vargas-Ayala *et al.* 2000) tout en fertilisant le

sol. De plus, l'ammoniac NH_3 issue de la dégradation de la matière organique (fumier bovin par exemple) possède un effet toxique depuis longtemps reconnu.

L'utilisation des plantes de services comme culture de couverture ou engrais vert, avant l'implantation d'une culture commerciale, est également une alternative à l'emploi du bromure de méthyle et/ou de tout autre produit de l'agrochimie pour lutter contre les bioagresseurs telluriques.

De nombreuses études menées à l'heure actuelle dans les régions tropicales et subtropicales consistent à rechercher et à sélectionner des plantes de services susceptibles d'être introduites en rotation culturale (culture de courte durée entre 2 cultures principales par exemple), en culture associée, enfouies ou non en tant qu'engrais vert.

Les rotations de cultures maraîchères hôtes avec des cultures non-hôtes (espèces céréalières, ou encore certaines plantes de couvertures comme les légumineuses) ont montré l'efficacité de cette méthode qui permet une biodésinfection du sol via la rupture du cycle infectieux de l'agent pathogène en quelques années. Généralement, il est recommandé de pratiquer une rotation culturale avec des plantes non hôtes sur une période de 5 à 7 ans (Abo-Elyousr *et al.* 2009).

Les rotations culturales peuvent également se faire avec des plantes de services à potentiel biocide. Notons que les effets peuvent être obtenus à plus ou moins long terme. Ainsi, Terblanche and de Villiers (2002) ont montré une nette diminution de l'incidence de la maladie passant par l'augmentation du rendement de l'ordre de 60% de la culture de tabac implantée après une rotation culturale sur 4 années avec l'œillet d'Inde (*Tagetes patula*) (plante connue pour ses effets nématocides).

Néanmoins, il est parfois difficile pour les agriculteurs du Sud de pratiquer ce type de système car les cultures sans valeur ajoutée n'apportent pas de bénéfice d'ordre économique visible à court terme. De plus, il est nécessaire de prendre en compte les besoins des agriculteurs et ainsi mettre en place des méthodes de lutte cohérentes avec l'itinéraire technique employé. Par exemple, il serait possible que la population de *R. solanacearum* diminue significativement en implantant une culture vivrière de maïs par exemple (non hôte pour l'agent pathogène) sur une période de 18 mois en rotation avec la culture commerciale de tabac. Or dans certaines régions de l'Afrique du Sud, les cultivateurs de tabac, qui possèdent de petites parcelles, préfèrent réaliser des rotations courtes, rentables directement, et malheureusement inefficaces sur le long terme (Terblanche, 2002).

Ce moyen de lutte pratiqué seul sans combinaison avec d'autres méthodes reste souvent inefficace. En effet, rappelons que les souches bactériennes peuvent se maintenir longtemps dans les sols.

Les **associations culturales** avec des plantes de services sont aussi possibles. Les plantes agissent comme barrières allélopathiques contre les agents pathogènes telluriques via (i) l'émission de substances racinaires à effets positifs favorisant l'induction de la résistance chez la plante commerciale, ou (ii) l'émission des substances racinaires à effets négatifs qui entraînent la mort de l'agent pathogène.

3) Le concept de la biofumigation

Le contrôle des agents pathogènes telluriques peut se faire par l'utilisation de substances fumigantes (gaz toxiques), lesquelles émettent et diffusent des composés biocides à large spectre. On emploie la notion CT (Concentration * Temps) pour déterminer l'efficacité du fumigant (Regnault Roger *et al.* 2008). Ces fumigants peuvent être synthétisés chimiquement (comme le bromure de méthyle) mais sont nocifs pour l'environnement. Néanmoins, des biofumigants naturels existent et sont tout aussi efficaces.

Le concept de biofumigation via l'utilisation de plantes est un processus de biodégradation qui consiste à broyer et à enfouir une plante dans un sol, à un stade donné de la culture. Auparavant, ce processus n'incluait que les Brassicacées, famille regroupant néanmoins 350 genres et 2500 espèces. Ces dernières, une fois broyées, relâchent des composés toxiques volatiles, les isothiocyanates, issus de l'hydrolyse des glucosinolates par une enzyme, la myrosinase. Désormais, le panel des espèces végétales biofumigantes contenant des glucosinolates s'est élargi (*Capparaceae*, *Moringinaceae*)(Matthiessen and Kirkegaard, 2006).

La biofumigation permet de lutter contre une grande diversité de phytopathogènes (insectes, bactéries, champignons, nématodes) mais aussi contre les mauvaises herbes. Une fois que la plante est broyée finement et enfouie dans le sol, l'émission des composés toxiques se fait rapidement et leur diffusion est d'autant plus favorisée que le sol est bien irrigué (effet à court terme). De plus, l'apport de matières organiques enfouies favoriserait à long terme l'activité microbienne du sol et de ce fait les compétitions entre microorganismes pathogènes et antagonistes (prédateurs, parasites) (Matthiessen and Kirkegaard, 2006). Ces changements

dans les communautés microbiennes sont probablement aussi causés par l'émission d'autres composés toxiques, en proportion plus faible dans la plante (Bending *et al.* 1999). L'optimum d'émission des composés toxiques se situe dans les premiers jours de l'enfouissement et quand la plante biofumigante a atteint son stade de pleine floraison. De plus, il semblerait que l'alternance de gel/dégel en régions tempérées optimiserait le relâchement des isothiocyanates (Michel *et al.* 2007).

Enfin, il semblerait que la durée de vie des produits issus des glucosinolates soit courte, de l'ordre de quelques jours à quelques semaines (Brown and Morra, 2005). Il est important de noter, dans une optique de comparaison entre les alternatives biologiques et les pesticides employés, que les durées de vie des produits biofumigants diffèrent fortement des amendements chimiques utilisés (Brown *et al.* 2005).

4) Description des plantes de service de notre étude

a. Choix des 6 plantes de service à tester

Les plantes de services testées dans le cadre de cette étude ont tout d'abord fait l'objet de travaux au sein de l'équipe du PRAM. Une vingtaine d'espèces végétales avaient été présélectionnées sur la base de travaux référencés dans la littérature, en particulier des travaux axés sur l'effet des plantes de services dans la gestion des les nématodes phytoparasites. En effet, peu de littérature existe sur les effets des plantes de services dans la gestion du flétrissement bactérien. L'équipe du PRAM s'était donc basée tout d'abord sur la pertinence de la littérature et plus précisément la connaissance acquise des effets biocides des plantes connues pour leur potentiel bactéricide, nématicide, fongicide et insecticide, la connaissance acquise des effets biofumigants des plantes, et enfin la connaissance du potentiel fertilisant de plantes utilisées en tant qu'engrais verts. Une fois cette première sélection faite sur la base de la littérature, le statut hôte/non hôte des vingt plantes candidates a été évalué en conditions contrôlées ainsi que le pouvoir antibactérien de leurs extraits aqueux sur la croissance *in vitro* de *R. solanacearum*. Ces travaux réalisés par l'équipe de phytopathologie du PRAM ont permis de sélectionner les espèces végétales suivantes :

1. *Raphanus sativus*

Espèce qui héberge *R. solanacearum* à faible densité, ce qui signifie que la bactérie est présente dans la plante mais ne se propage pas à l'intérieur de la plante. De

plus, cette espèce n'a pas montré d'effet multiplicateur sur les populations de *R. solanacearum* dans le sol rhizosphérique.

L'extrait aqueux de *Raphanus sativus* a montré un fort effet antibactérien sur la croissance *in vitro* de *R. solanacearum*.

2. *Allium fistulosum*

Espèce qui n'héberge pas *R. solanacearum* et qui réduit fortement et significativement les populations de *R. solanacearum* dans le sol rhizosphérique.

L'extrait aqueux d'*Allium fistulosum* a montré un fort effet antibactérien sur la croissance *in vitro* de *R. solanacearum*.

3. *Tagetes patula*

Espèce qui héberge *R. solanacearum* à faible densité et qui réduit significativement les populations de *R. solanacearum* dans le sol rhizosphérique.

L'extrait aqueux de *Tagetes patula* n'a pas été testé sur la croissance *in vitro* de *R. solanacearum*.

4. *Mucuna deeringiana*

Espèce qui héberge *R. solanacearum* à faible densité et qui n'a pas montré d'effet multiplicateur sur les populations de *R. solanacearum* dans le sol rhizosphérique.

L'extrait aqueux de *Mucuna deeringiana* a montré un fort effet antibactérien sur la croissance *in vitro* de *R. solanacearum*.

5. *Crotalaria spectabilis*

Espèce qui héberge *R. solanacearum* à faible densité et qui réduit significativement les populations de *R. solanacearum* dans le sol rhizosphérique.

6. *Crotalaria juncea*

Espèce qui héberge *R. solanacearum* à faible densité et qui n'a pas montré d'effet multiplicateur sur les populations de *R. solanacearum* dans le sol rhizosphérique.

Les extraits des légumineuses, *Crotalaria juncea* et *Crotalaria spectabilis*, n'ont pas été testés *in vitro*.

De plus, la sélection des trois espèces de légumineuses (*Mucuna deeringiana*, *Crotalaria juncea* et *Crotalaria spectabilis*) a été basée sur les résultats d'une étude complémentaire sur les caractéristiques agronomiques (P. Fernandes, communication personnelle).

b. Description des plantes de services de choix à tester dans notre étude

i. Cas de l'œillet d'Inde (*Tagetes patula*)

L'œillet d'Inde est originaire d'Amérique du Sud. Le genre *Tagetes* comprend une quarantaine d'espèces toutes originaires des tropiques. Les anglophones utilisent le terme « French marigold » car les horticulteurs français ont créé un grand nombre de cultivars depuis son introduction en France au XVI^e siècle.

Cette plante ornementale appartient à la famille des Astéracées et se répartit en 3 groupes distincts : Français (dont *Tagetes patula*), Africain et Triploïde.

L'œillet d'Inde se cultive facilement à travers le monde notamment en Amérique du Sud, en Inde et en Afrique du Sud, en tant que plante ornementale, très appréciée dans les jardins des particuliers (**Figure 5**). La demande mondiale de la poudre de *Tagetes* spp. utilisée en colorant textile, colorant alimentaire, en huile essentielle dans la parfumerie témoigne de sa culture à grande échelle en Amérique du Sud (colorant) et en Inde (huile).

Notons que cette plante présente également des propriétés médicamenteuses pour l'homme (antiparasitaire, sédatif, antivirale, antifongique....).



Figure 5 : L'espèce *Tagetes patula*
(photo : équipe de phytopathologie du PRAM)

Une étude réalisée par Terblanche (2007) en Afrique du Sud, en conditions semi-contrôlées de serre a montré que *Tagetes patula*, mise en rotation pendant 3 mois et avant la culture de

tabac, était une plante non-hôte vis-à-vis de la bactérie *Ralstonia solanacearum* et diminuait significativement sa population dans le sol. Les effets biocides de la plante (3 mois au sol) semblent en outre plus importants après la mise en place au préalable d'une culture d'hiver de patate douce (sur 4 mois), non-hôte de *R. solanacearum* et précédée elle-même de la culture de tabac. La rotation [patate douce-œillet d'Inde- tabac] a permis de diminuer de 40% l'incidence de la maladie sur le tabac, en conditions de serre. Au champ, cette méthode permet une augmentation de 60% du rendement de la culture de tabac. Une autre étude au champ menée également par Terblanche a permis de mettre en évidence l'effet de *Tagetes patula* sur la réduction des populations de *R. solanacearum* dans le sol, en association culturale avec une culture sensible de tabac sur une période de 2 mois.

De nombreux travaux (Terblanche, 2007) ont révélé l'effet biocide de *Tagetes* spp sur les nématodes du genre *Meloidogyne* spp, mais aussi sur *Pratylenchus penetrans* (nématodes des racines, s'attaquant principalement à la pomme de terre) (Ploeg, 2002) et *Rotylenchulus reniformis* (Caswell *et al.*, 1990). Ainsi, il n'est pas rare d'observer *Tagetes* spp en association avec des cultures commerciales afin de lutter contre ces nuisibles aussi bien en climat tempéré que tropical. En Californie, des essais au champ ont fourni des rendements de cultures commerciales (telles que le melon, la tomate) élevés après l'implantation de *Tagetes patula* en précédent cultural, de l'ordre de 45% de rendement en comparaison à une culture sans précédent (Ploeg, 2002).

Le genre *Tagetes* spp est connu pour ses propriétés biocides sur les nématodes, les aleurodes, mais aussi sur les adventices comme le chiendent, le liseron. Les extraits aqueux de rose d'Inde (*Tagetes erecta*), espèce proche de *Tagetes patula*, empêche l'éclosion des œufs de nématodes et détruit les juvéniles à une concentration de 10%. L'agent mis en cause est un composé polyacétylène, volatile, toxique, le thiophène, émis principalement par les racines de la plante, mais aussi plus anecdotiquement par les feuilles et les pétales de fleurs. Ce dernier est émis en plus grande quantité quand la plante atteint son stade reproductif (Marotti *et al.*, 2009). Enfin, il est nécessaire de prendre en compte la durée d'implantation de la plante dans le sol (au moins 2 mois- Terblanche and Villiers, 1998) ainsi que la densité de plants semés, afin que celle-ci puisse exsuder une concentration suffisamment létale de thiophène.

Malgré les nombreux articles prouvant l'effet biocide de *Tagetes* spp sur les populations de nématodes et de *Ralstonia solanacearum* (Ploeg, 2002), des nuances sont à apporter compte tenu de la prise en compte du statut d'hôte très relatif que peut avoir *Tagetes* spp. Ainsi, certains articles ont montré que *Tagetes patula* était hôte de *Ralstonia solanacearum* dans d'autres régions du monde comme les Etats-Unis-Caroline du Nord (Jones *et al.* 1996).

Notons également que l'effet biocide escompté de *Tagetes spp* dépend de la variété utilisée et de l'espèce de nématode étudiée. Le niveau de contrôle obtenu dépend largement de ces deux facteurs.

L'œillet d'Inde présente un effet biocide temporel intéressant. En effet, certaines plantes intéressantes pour la biofumigation comme *Tagetes spp.* ont un effet à court terme. Elles sont utilisées pour la plupart en rotation avec une culture commerciale mais généralement leur effet biocide diminue en quelques mois, permettant ainsi une réinfection du sol et donc une réinfection de la culture d'intérêt.

ii. Cas des Crotalaires (*Crotalaria juncea* et *Crotalaria spectabilis*)

Les crotalaires sont issues de la famille des Fabacées constituée de près de 250 espèces végétales. Originaire d'Asie, ces espèces végétales (et plus particulièrement *C. juncea* et *C. spectabilis* –**Figure 6-**) sont désormais largement répandues dans toutes les zones tropicales et subtropicales du globe (source FAO). On retrouve le plus grand nombre d'espèces en Afrique. Le genre *Crotalaria spp* possède de nombreux avantages agronomiques de part le fait d'appartenir à la famille des légumineuses. Ainsi, ces plantes sont le plus souvent utilisées par les agriculteurs comme engrais vert. En effet, ces plantes sont susceptibles de s'adapter à tous les types de sol ; elles sont des compétitrices directes des adventices ; elles hébergent généralement peu d'agents phytopathogènes; leur croissance est rapide et donne des plants robustes et résistants à la sécheresse, capables de fournir une bonne couverture au sol et permettant aussi de lutter contre l'érosion. Notons également que ces plantes approvisionnent les cultures de rente en matière organique et en azote quand cela est nécessaire, permettant ainsi de limiter l'apport d'amendements organique et minéral.

Crotalaria juncea est l'un des engrais verts les plus utilisés sous les tropiques. En Inde, au Bangladesh, la plante est cultivée et utilisée dans l'industrie du textile pour ses fibres (papier de haute qualité, cordage) ; au Brésil, elle y est cultivée comme engrais vert.

Cette plante est sensible à la photopériode et ne fleurit qu'en réponse à des jours courts.



Figure 6 : Les espèces *Crotalaria juncea* (à gauche) et *Crotalaria spectabilis* (à droite)
(photo : équipe de phytopathologie du PRAM)

Des travaux menés sur *Crotalaria juncea* et sur *Crotalaria spectabilis* ont montré leur statut non-hôte pour un large panel d'agents pathogènes et plus précisément, pour le genre *Meloidogyne* (Germani *et al.* 2004 ; Wang *et al.* 2002 ; Rhoades H.L., 1964).

Les Crotalaires sont les légumineuses les plus utilisées pour leurs effets nématocides essentiellement en Amérique du Sud et en Inde (Regnault-Roger *et al.* 2008). La plupart des organismes cibles sont des nématodes endoparasites comme *Meloidogyne* spp. mais aussi *Rotylenchulus reniformis* (principal ravageur de l'ananas en Martinique) et *Radophylus similis* (ravageur de la banane). Tous les articles (Germani *et al.* 2004 ; Wang *et al.* 2002) ayant pris comme modèle *C. spectabilis* ou *C. juncea* en zone tropicale subtropicale ont eu des résultats concourants, démontrant ainsi leur effet biocide vis à vis de *Meloidogyne* spp. Généralement, même si le nématode phytoparasite s'introduit dans la plante, son cycle de reproduction est bloqué. De plus, les exsudats racinaires sont ovicides. Ainsi, Germani *et al.*, (2004) ont montré, en conditions expérimentales de serre, que les juvéniles J2 de *M. incognita* et *M. javanica* envahissaient les plants de tomates et pouvaient devenir adultes, alors que ceux ayant pénétré dans une espèce de Crotalaire atteignent rarement le stade J3.

Malgré la grande utilité agronomique du genre Crotalaire et la preuve de son effet nématocide sur le genre *Meloidogyne*, peu d'études ont été réalisées sur l'effet de *Crotalaria* spp. sur la l'agent bactérien tellurique, *Ralstonia solanacearum*. Une étude réalisée en conditions de serre (Cardoso *et al.*, 2006) a montré que la combinaison de tissus frais de *Crotalaria juncea* et de *Cajanus cajan* (pois d'angole) incorporés dans un sol infecté, et laissés pour incubation durant 2 mois, avait permis de contrôler le flétrissement bactérien (100% du flétrissement

bactérien contrôlé avec 20-30% de plantes incorporées dans le sol). Cette combinaison avait certainement aussi favorisé l'activité microbienne totale du sol et donc les éventuels antagonistes de la bactérie.

Il semblerait aussi que des composés émis par le genre *Crotalaria* spp., le pyrrolizidine et la monocrotalline (émis par *Crotalaria spectabilis*) aient un effet toxique sur les nématodes. Ces composés seraient spécifiques des *Crotalaria* spp. Des expériences ont prouvé que des nématodes mis en contact avec des extraits de feuilles de *Crotalaria* spp mouraient dans les 24h suivant leur exposition (Wang *et al.*, 2004).

Wang *et al.* (2004) ont résumé dans une revue scientifique les différents mécanismes intervenant dans la suppression des nématodes par les *Crotalaria* spp:

- La production de substances allélochimiques toxiques et/ou inhibitrices du développement des nématodes juvéniles ou de l'élaboration des œufs.
- L'influence positive sur la flore antagoniste des nématodes leur permettant d'entrer en concurrence directe avec ces derniers (même niche écologique par exemple) ;
- La mise en place de pièges à nématodes par des champignons saprophytiques ou parasites.
- L'adaptation du statut de non-hôte ou statut hôte à faible densité.
- L'émission d'ammonium NH_4^+ précédée par la fixation d'azote atmosphérique par les nodosités de la légumineuse, pouvant induire la plasmolyse des nématodes, ou la prolifération de champignons nématophages.

Il est important de préciser que les effets biocides varient en fonction de l'espèce végétale testée et de l'espèce de nématode étudiée.

Précisons aussi que les effets des Crotalaires sont efficaces sur une assez courte échelle de temps, de l'ordre de quelques mois (Wang *et al.*, 2004). Ceci incite donc à trouver d'autres stratégies de lutte, et de les combiner pour obtenir un résultat optimal.

Le genre *Crotalaria* spp est bien adapté au climat tropical et subtropical même si on peut l'observer également en climat tempéré où la plante peut résister à des froids relativement légers. Utilisée comme engrais vert, le rendement de la plante en biomasse peut atteindre 2T/Ha en moins de 8 semaines en Thaïlande (source FAO).

Dans les régions tropicales, l'espèce *Crotalaria juncea* peut s'implanter dans de nombreuses zones et être cultivée toute l'année, d'une altitude variant de 0 à 600 mètres.

iii. Cas du Pois Mascate (*Mucuna deeringiana*)

Le pois Mascate (*Mucuna deeringiana*) est une légumineuse originaire des régions tropicales d'Afrique (**Figure 7**). Elle y est cultivée notamment pour ses avantages agronomiques (fertilisation, fourrage, suppression des mauvaises herbes) en Afrique essentiellement, où il est difficile pour les agriculteurs de se procurer des engrais et où la jachère de plusieurs années ne serait pas une valeur économique sûre.

La plante croît rapidement ; son optimum de croissance se situe dans une échelle de température comprise entre 20 et 25°C, ce qui correspond aux conditions des zones tropicales. Cette plante, testée en conditions de serre et de champ, a un effet nématocide sur le genre *Meloidogyne* (Rodriguez-Kabana *et al.*, 1992 , McSorley *et al.*, 1994).



Figure 7 : L'espèce *Mucuna deeringiana*
(Photo : équipe de phytopathologie du PRAM)

Rodriguez-Kabana *et al.* (1992) ont testé l'effet biocide, en serre de *Mucuna deeringiana* sur trois espèces de nématodes phytoparasites : *M. arenaria*, *M. javanica* et *M. incognita*. Vargas-Ayala *et al.* (2000) ont montré en conditions au champ que la culture de *Mucuna deeringiana* favorisait la suppression des populations microbiennes de nématodes nuisibles. Des changements dans les communautés microbiennes du sol ont été observés, avec un effet avéré sur la diversité (champignons, bactéries) et les populations (fréquence plus élevée des bactéries des genres *Arthrobacte* et *Burkholderia*). Aussi, la culture de *Mucuna deeringiana*

avait favorisé le parasitisme des œufs de *Meloidogyne incognita* par les champignons *Verticillium poconia*, *Paecilomyces lilacinus*. Les résultats de Rodriguez-Kabana *et al.* (1992) ont montré une prolongation des effets de *Mucuna deeringiana* sur une période de trois ans (cas de deux années de cultures de *Mucuna deeringiana* précédant une année de culture d'arachide), via des changements dans les populations des autres microorganismes présents dans le sol.

Mucuna deeringiana présente un potentiel de contrôle des populations de nématodes aussi bien en tant que culture associée qu'en tant que culture en rotation. Ainsi, il a été montré qu'une rotation culturale de 3 ans avec deux années de cultures de *Mucuna deeringiana* suivie d'une année de culture d'Arachides diminuait significativement la population de nématodes (*Meloidogyne arenaria*) en comparaison à une monoculture d'arachide. (Rodriguez-Kabana *et al.*, 1992). L'effet de la plante a donc continué pendant la saison hivernale mais aussi surtout lors de la mise en culture de l'arachide. Ceci démontre que la destruction des nématodes ne dépend pas seulement des composés toxiques émis par *Mucuna deeringiana* mais aussi du potentiel de « suppressivité des sols ».

iv. Cas du radis fourrager (*Raphanus sativus*)

Le radis fourrager (*Raphanus sativus*) est une plante bisannuelle originaire d'Asie centrale, appartenant à la famille des Brassicacées (**Figure 8**) Cette plante se cultive facilement en climat tempéré : il suffit que le sol soit humide bien ameubli, avec un pH de 5.5 à 6 et avec une exposition au soleil normale. Sa floraison se fait toute l'année. Le climat tropical permettrait aussi sa culture. Cette plante a un développement rapide, utilise les réserves minérales du sol et peut se développer sur des sols pauvres en humus (critère intéressant pour son implantation dans les régions tropicales). La récolte s'effectue assez rapidement, 25 à 30 jours après le semis. Le rendement escompté en Martinique peut être évalué à 15T/ha environ (fiche technique, chambre d'agriculture de la Martinique)

Beaucoup de Brassicacées (moutardes, choux...) incorporées dans les systèmes de culture en tant qu'engrais vert, ont une activité biocide sur de nombreux agents phytopathogènes. Outre leur activité sur les micro-organismes cibles, nous assistions généralement au bon développement de la plante d'intérêt et par conséquent une hausse de rendement. Cela constitue un argument de choix pour l'introduction des crucifères dans les systèmes de rotation.



Figure 8 : L'espèce *Raphanus sativus*
(Photo : équipe de phytopathologie du PRAM)

Arthy *et al.* (2005) ont testé les effets biofumigants de différentes Brassicacées sur *Ralstonia solanacearum*, dont une variété de *Raphanus sativus*. Dix jours après leur incorporation au sol, la concentration de glucosinolates était de 16.2 $\mu\text{moles/g}$ de tissu et on dénombrait 4225 CFU/g de sol contre 10000 CFU/g pour un sol nu. Arthy *et al.* (2005) ont démontré que l'émission de glucosinolates au cours des premiers jours de l'incorporation des tissus des Brassicacées est hautement corrélée à la diminution des populations de *Ralstonia solanacearum* ce qui n'est pas le cas 30 jours plus tard. Ceci implique que l'émission des substances toxiques se fait sur une courte durée, au début de la phase d'enfouissement de la plante. Il est néanmoins conseillé de transplanter la culture une semaine après l'enfouissement (Michel *et al.*, 2009).

Alvarez *et al.* (2007) ont testé le statut hôte d'une vingtaine de plantes d'intérêt pour la rotation culturale dont le radis fourrager (*Raphanus sativus*). La base des tiges des plants a été inoculée artificiellement à une concentration de 10^8 CFU/mL. Un mois après l'inoculation, chaque plante testée a été prélevée. Alvarez *et al.* (2007) ont pu observer via des techniques de microscopie que la bactérie était présente seulement sur 4 plants sur 36, à l'intérieur du cortex, à la surface des racines.

Monfort *et al.* (2007) ont montré qu'en conditions au champ, le radis, la rutabaga, l'épinard et quelques variétés de moutarde présentaient une activité nématocide sur *Meloidogyne incognita* et influençaient fortement le rendement des cultures commerciales de tomates et de courgettes. L'évaluation de l'activité nématocide se base généralement sur le comptage de

juvéniles extraites du sol. Cette étude montrait que le radis avait significativement réduit les populations de nématodes entre la récolte de la culture de couverture, son enfouissement, et le semis de la culture commerciale de courgette. Mais la population réaugmente fortement au cours du cycle de la plante commerciale quelles que soient les plantes testées. Néanmoins, les plants de tomates et de courgettes sont plus vigoureux après implantation du radis, mais aussi après l'épinard, le navet, comparée à d'autres plantes comme le colza et le seigle.

L'espèce *Raphanus sativus*, comme toutes les Brassicacées, synthétise un métabolite secondaire, le glucosinolate. Cette molécule est stockée dans toute la plante en quantité plus ou moins importante, dans la vacuole dans cellules. Lors de l'enfouissement des végétaux, la dégradation des tissus végétaux provoque la libération de la molécule et de la myrosinase, enzyme localisée dans le mésophylle et le phloème. Cette enzyme va hydrolyser le glucosinolate. Le produit formé est principalement l'isothiocyanate, très réactif, volatil et à forte odeur spécifique du radis et de la moutarde. Ce produit est similaire à certains produits fumigants chimiques que l'on trouve encore dans le commerce comme le métam sodium ou encore le dazomet qui relâchent de l'isothiocyanate de méthyle (Oka, 2010). D'autres produits peuvent se former selon la valeur du pH (nitriles si le milieu est acide, et thiocyanates le cas échéant). Ces produits sont toxiques pour les insectes, les bactéries, les champignons, les nématodes. Précisons également que ces plantes intéressent particulièrement les chercheurs en santé humaine, animale, tandis que certaines études ont prouvé que les produits dérivés de glucosinolates jouent un rôle protecteur vis-à-vis de substances cancérigènes (exemple de l'inactivation de la bactérie *Helicobacter pylori* favorisant le cancer gastrique).

Un point important à soulever est que toutes les Brassicacées ne contiennent pas la même concentration de glucosinolates, et n'agissent pas forcément sur les mêmes espèces de nématodes; ce qui incite donc à sélectionner les espèces adéquates à l'agent pathogène cible.

Outre ces critères, le choix d'une Brassicacée comme plante de service doit se faire selon des critères de production suffisante de biomasse et de glucosinolates, mais aussi selon l'adaptation à l'aire géographique et son effet sur la culture de rente.

v. Cas de l'oignon péyi (*Allium fistulosum*)

Les effets des plantes de la famille des *Allium* spp sur la santé humaine (diminution des cancers gastro-intestinaux, des tumeurs...) sont connus depuis l'Antiquité.

Généralement, les molécules bénéfiques à la santé humaine ont montré *in vitro* un fort potentiel phytosanitaire insecticide, bactéricide, acaricide, nématocide, fongicide (Arnault *et al.*, 2005).

Les effets des composés soufrés volatiles insecticides et répulsifs ont déjà été démontrés à maintes reprises notamment sur les larves de moustiques *Culex pipiens* mais aussi sur certains phytophages comme la pyrale de la farine (*Ephesia kuehniella*) (Arnault *et al.* 2005).

L'activité microbienne de l'Ail (*Allium sativum*) a été la plus étudiée dans le domaine des antimicrobiens naturels. En effet, 1 à 2% d'extrait végétal suffisent à inhiber la croissance de nombreux microbes (Kyung K.H. 2001).

L'oignon péyi (*Allium fistulosum*) utilisé dans notre étude, est largement cultivé sur l'île de la Martinique (**Figure 9**). Certaines conditions peuvent optimiser sa culture : présence d'un sol bien ameubli et riche en matière organique, pH de 6.5. Cette culture est de plus bien adaptée aux zones d'altitudes (fiche technique, chambre d'agriculture). Présentant des effets biofumigants qui ont été testés préalablement en conditions contrôlées au laboratoire de phytopathologie du PRAM (communication personnelle P. Deberdt) , cette plante aurait un intérêt tout particulier à être employée en Martinique tant par sa valeur économique (en tant que culture de rente) que son implantation naturelle sur l'île. Le rendement de cette culture est estimé entre 30 et 40 T/ha, la récolte s'effectuant 70 à 80 jours après semis, et ce durant 3 à 5 semaines.



Figure 9 : L'espèce *Allium fistulosum*

(Photo : équipe de phytopathologie du PRAM)

Yu *et al.* 1999) ont montré que l'association [tomates-ciboulettes chinoises (*Allium tuberosum*)] diminuait l'incidence du flétrissement bactérien sur la Tomate

L'extrait cru de l'Ail (*Allium sativum*) a été testé sur *R. solanacearum* *in vitro* et *in vivo*, en serre. Les résultats ont montré une importante activité antibactérienne permettant ainsi de diminuer le développement de la maladie *in vivo*. En effet, les auteurs ont montré que l'indice du flétrissement bactérien était réduit de l'ordre de 50%, si l'extrait végétal était appliqué deux jours avant ainsi que le jour même de l'inoculation de *R. solanacearum*, en comparaison à deux jours après l'inoculation de *R. solanacearum* (Abo-Elyousr *et al.*, 2009)

Des tests *in vivo* avec des extraits d'Ail sur d'autres bactéries pathogènes de la Tomate (*Pseudomonas syringae* pv. *Tomat*, *Xanthomonas vesicatoria* et *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) ont également montré une forte diminution de l'incidence et de la sévérité de la maladie (Balestra *et al.*, 2009).

La majorité des expériences réalisées *in vitro*, traitant de l'intérêt des *Allium* spp. dans la gestion des maladies telluriques a pris comme modèle le nématode à galles, *Meloidogyne incognita*, (Arnault *et al.* 2005 ; Tada *et al.* 1988). L'effet nématicide des substances soufrées volatiles a été clairement mis en évidence. Néanmoins, quelques études *in vivo* montrent que ces composés, notamment le diméthyle de disulfure (DMDS), sécrété par *Allium sativum* (Ail) ainsi que d'autres espèces d'*Allium* spp, doivent parfois être utilisés en grande dose (de l'ordre de 300 Kg/Ha) pour obtenir un contrôle suffisant des nématodes (Rodriguez-Kabana, 1992). Arnault *et al.* (2005) ont également démontré, *in vivo*, dans des conditions contrôlées en laboratoire, un potentiel fongicide optimal des déchets de poireaux et de tri d'oignons à une dose de 240t/ha. En effet, 15 jours après l'inoculation artificielle d'un sol avec l'agent *Pythium ultimum* (pathogène s'attaquant à un grand spectre d'hôtes parmi lesquels le concombre, la tomate ...) ils ont pu observer sur concombre près de 80% de plantes saines après traitements avec déchets d'oignons contre 50% avec des déchets de poireaux. Un mois après l'incubation, l'effet est encore plus important avec respectivement près de 100% de plantes saines avec les oignons contre 70% de plantes saines avec les poireaux.

Allium spp possède des acides aminés soufrés non protéiques dont des S-alk(en)ylcystéines qui sont stockés dans les cytoplasmes des cellules des plantes. Les propriétés phytosanitaires de ces plantes dépendent essentiellement des composés soufrés volatils dérivés de ces acides aminés. Le broyage des tissus végétaux provoque l'hydrolyse de ces acides aminés par une enzyme, l'allinase, présente dans la vacuole et libérée lors de la dégradation des tissus végétaux. Cette réaction chimique produit des acides sulféniques instables qui vont alors se réarranger pour former des thiosulfonates eux même instables, le plus étudié étant l'allicine.

Ces derniers donneront en majorité des molécules plus stables que sont les disulfures (66%), les sulfures (14%) et les trisulfures (9%) (Regnault-Auger *et al.*, 2008). Les principales molécules produites sont le disulfure de diméthyle (DMDS) produits par l'Oignon, l'Ail mais aussi par les Brassicacées ; le disulfure de diallyle (DADS) produit par l'Ail ; et enfin, le disulfure de dipropyle (DPDS) produit par le Poireau (Arnault *et al.*, 2005).

PARTIE 2 : EXPERIMENTATION EN SERRE



L'essai expérimental s'est déroulé du 27 septembre 2010 au 13 janvier 2011, en conditions semi-contrôlées, dans la serre de phytopathologie du PRAM (Pôle de Recherche Agro-Environnementale de la Martinique).

Cette expérimentation avait pour objectif principal d'évaluer le potentiel assainissant de six plantes de services vis-à-vis du flétrissement bactérien.

Les objectifs spécifiques ont été :

- d'évaluer le statut hôte de chaque plante de service via l'extraction de *Ralstonia solanacearum* à la base des tiges ;
- de mesurer l'effet assainissant de chaque plante de service via le suivi épidémiologique du flétrissement bactérien sur une période de 6 semaines.

Chaque plante de service a été évaluée au cours de trois phases :

- La phase 1, variant de 42 et 84 jours selon le cycle de la plante (cycle court ou cycle long).
- La phase 2, phase de biofumigation de 10 jours, après broyage et enfouissement des plants ;
- La phase 3, de 45 jours, phase culturale de la tomate (*Lycopersicon esculentum*), sur précédent cultural « plante de service »

Les plantes de service ont été semées respectivement le 27 septembre (J0) pour les plantes à cycle long et le 25 octobre (J'0) pour les plantes à cycle court, dans les jardinières T2, T3 et T4. Mon stage se déroulant du 1^{er} septembre au 31 décembre 2010, je n'ai donc pas pu suivre toute l'étude notamment la phase biofumigante (jardinières T3 et T4, voir **Annexe 2 : Figure du protocole**). Seule la phase culturale des plantes de service a fait l'objet de mon étude.

Dans un premier temps, nous avons choisi d'évaluer le potentiel infectieux du sol naturellement infesté en *R. solanacearum* en serre mais également le statut-hôte des différentes plantes de service a été étudié via la détermination de la densité bactérienne à la base des tiges en demi-phase culturale (T2) et en fin de phase culturale (T3) des plantes de services. Ceci a pour but d'évaluer la progression systémique de la bactérie dans les plantes au cours de cette phase culturale.

Des essais préalables ont été réalisés en chambre climatique afin d'évaluer plusieurs critères nécessaires à prendre en compte dans l'expérimentation en serre.

1) Etudes préalables en chambre climatique

Toutes les expériences décrites ci-dessous ont permis de retenir certains critères pour l'essai expérimental à mettre en place en serre : le choix de la variété de tomate à tester (Heatmaster vs Roma) et le choix de scarifier ou non les tomates. Ces études faisaient intervenir, lors des inoculations artificielles à 10^8 CFU/mL, la souche de *R. solanacearum* dite de référence, appartenant à la population émergente.

La température en chambre climatique varie de 28-30°C le jour et de 25-26°C la nuit, avec une photopériode de 14h.

a. Comparaison de la sensibilité de deux variétés de tomate à Rs à trois niveaux d'inoculum

Les expériences précédemment effectuées utilisaient la variété Roma, variété hautement sensible à l'agent pathogène. Le but de cette étude était de comparer deux variétés de tomates, Roma et Heatmaster en testant 3 pressions d'inoculum, et ce, afin de déterminer la variété permettant une meilleure discrimination de ces différentes densités d'inoculum. Les résultats permettraient alors de choisir la variété adéquate à utiliser lors des autres essais en chambre climatique mais également pour l'expérience en serre. Ainsi, la variété Heatmaster a permis de mieux discriminer les concentrations d'inoculum comprises entre 10^6 et 10^8 CFU/mL. Par conséquent, cette variété a été choisie pour l'essai en serre.

b. Evaluation du potentiel infectieux de la bactérie selon le facteur scarification et le facteur inoculation

Le facteur « scarification » a été testé afin de comparer les indices de maladie avec et sans scarification des plants de Tomate cv Heatmaster. L'objectif était de trouver la meilleure combinaison de ces deux facteurs qui assuraient des indices de maladie élevés en serre tels que ceux observés en conditions de champ sur Tomate, c'est-à-dire proche de 80% (**Figure 10**) Les résultats seront présentés par la suite dans la partie « Analyse des données ».



Figure 10 : Plants de tomates en chambre climatique (équipe de phytopathologie, PRAM)

2) Méthodologie

a. Matériel

i. Le sol : sol naturellement infesté de Rivière Lézarde

Le sol utilisé dans notre essai a été prélevé sur le site expérimental de Rivière Lézarde où la présence des souches des populations historique et émergente a été confirmée (étude réalisée au laboratoire de phytopathologie du PRAM). La population émergente est apparue comme la population majoritaire d'après les résultats des analyses du laboratoire de phytopathologie du PRAM (P. Deberdt, communication personnelle). L'inoculum naturel a été multiplié dans le sol par transplantation préalable d'une culture de tomates et l'indice de maladie a atteint 80% de flétrissement bactérien. Néanmoins, la quantification précise de la densité d'inoculum bactérien est difficile à évaluer dans les sols naturels.

ii. Les plants de tomates

Les plants de tomate représentent les indicateurs biologiques pour l'évaluation du potentiel infectieux du sol en *R. solanacearum*.

Les plants de tomate sont transplantés au stade 17-18 jours après avoir été semées au préalable en pépinière (Pépinière Adèle, Saint Joseph), sur sol non infesté (voir **Annexe 2**).

Dans la moitié des jardinières T1, les racines des plants de tomate ont été scarifiées, aléatoirement à l'aide d'un scalpel et toujours par la même personne juste après transplantation. Ceci avait pour but de déterminer si les blessures (simulation de celles

causées par les blessures naturelles occasionnées dans un sol naturel) augmentaient l'incidence de la maladie et ainsi de savoir s'il était judicieux de scarifier les plants des jardinières T2, T3 et T4, à posteriori.

Les plants atteints de flétrissement bactérien ont été laissés dans les jardinières T1, T2, T3 et T4 jusqu'à la date de retrait, 6 semaines après transplantation afin de maximiser la densité d'inoculum et ainsi de favoriser le flétrissement bactérien.

iii. Les plantes de services

Six plantes candidates ont été choisies pour cette étude, 4 à cycle long et 2 à cycle court.

Plantes à cycle long :

- *Mucuna deeringiana* « Singapour »
- *Crotalaria spectabilis*
- *Crotalaria juncea* cv. IAC-1
- *Allium sativum*

Plantes à cycle court :

- *Tagetes patula*
- *Raphanus sativus* cv Melody

Les plantes à cycle long et à cycle court ont été semées respectivement le 27 septembre 2010 et le 25 octobre 2010.

b. Dispositif expérimental

Les densités de semis ont été définies sur la base des recommandations au champ et ensuite calculées à l'échelle des jardinières de 30 Litres (56*27*20cm). De plus, le taux de germination des semences a été déterminé auparavant afin de l'optimiser lors de l'expérience.

i. Les différents traitements

Chaque plante de service est soumise à deux traitements, une densité simple D1, et une densité double D2. Ces deux densités ont été choisies pour mieux comprendre les mécanismes d'action des plantes de service. Chaque traitement plante de service* densité est répété 3 fois (3 blocs) : il s'agit par conséquent d'un dispositif en 3 blocs.

Cet essai est composé de deux expérimentations:

- (i) L'expérimentation 1 avec quatre plantes de service à cycle long, soit $4 \times 2 \times 3 = 24$ blocs, et 2 traitements témoins répétés une fois pour les 2 modalités de densité : sol nu et tomates soit $2 \times 3 = 6$ blocs.
- (ii) L'expérimentation 2 avec deux plantes à cycle court ; nous avons donc $2 \times 2 \times 3 = 12$ blocs avec également 6 blocs témoins.

Au sein de chaque répétition, la moitié des jardinières J1 ont été scarifiées de façon aléatoire.

Tous ces bacs ont été disposés de façon aléatoire également. (**Figure 11**)

	T15	T14	T3	T8	T2	T7	T5
	T13	T11	T9	T4	T6	T1	T10
	T14	T12	T16	T7	T2	T6	T10
Sas		T11	T13	T4	T1	T3	T9
	T12	T16	T15	T9	T7	T5	T8
	T13	T14	T16	T1	T8	T4	T2
	T12	T11	T15	T6	T3	T5	T10

CL

Rep 1

Rep 2

Rep 3

CC

Ti : jardinière J1 scarifié du traitement i

Traitement	Densité	Espèce
1	X1	Mucuna deer. Singapour
2	X2	Mucuna deer. Singapour
3	X1	Crotalaria juncea cv.IAC-1
4	X2	Crotalaria juncea cv.IAC-1
5	X1	Crotalaria spectabilis 'Brésil'
6	X2	Crotalaria spectabilis 'Brésil'
7	X1	Allium fistulosum
8	X2	Allium fistulosum
9	Témoin	Sol Nu
10	Témoin	Tomate
11	X1	Tagetes patula
12	X2	Tagetes patula
13	X1	Raphanus sativus cv Melody

14	X2	Raphanus sativus cv Melody
15	Témoin	Sol Nu
16	Témoin	Tomate

Figure 11 : Plan du dispositif/ Répétitions et limites des blocs pour les plantes à cycle long & cycle court

ii. Organisation des bacs et dates de prélèvement (Annexe 1)

Chaque bac contient quatre jardinières qui correspondent à une date de transplantation des plants de tomates et/ou de prélèvement des plantes de services.

Ainsi, la première jardinière correspond à la date T1 de transplantation de 15 plants de tomates témoins. Nous avons à cette même date, transplanté cinq plants de tomates par jardinière dans les blocs qui devaient accueillir les plantes à cycle court, le but étant de maintenir la population de *Ralstonia* jusqu'à ensemencement des graines et ce, 42 jours après la transplantation des plantes à cycle long. La terre contenue dans ces jardinières a ensuite été réhomogénéisée 4 jours avant l'ensemencement au 25 octobre des plantes à cycle court.

Aucune plante de service n'a été semée dans ce bac. Ceci permet donc d'évaluer le potentiel infectieux initial du sol.

La date T2 correspond au demi-cycle cultural des plantes de service. La même journée, 15 plants de tomates âgés de 2-3 semaines sont transférés au sein de la deuxième jardinière.

La date T3 correspond à la fin du cycle cultural des plantes de service. Dans les troisièmes et dernières jardinières, celles-ci seront broyées et enfouies dans le sol. Les tomates seront immédiatement transplantées dans la troisième jardinière.

A la date T4, seules les tomates seront transplantées dans la quatrième jardinière étant donné que les plantes de services auront déjà été broyées et enfouies depuis 10 jours.

A la fin de chaque date T2, T3 et T4, les plantes de services sont prélevées délicatement et détachées du sol rhizosphérique, afin d'évaluer leur statut hôte

Six semaines après transplantation des tomates dans les jardinières T1, T2, T3 et T4, les plants non flétris seront prélevés afin de réaliser un isolement bactérien à la base des tiges, sur plants sans symptômes restants.

2) Relevés de données

Le protocole initial prévoyait de remplacer une unique fois les plants flétris dans les jardinières T2, T3, T4 « témoins » des cycles longs (pas de remplacement dans les jardinières de cycle court) afin d'optimiser la densité d'inoculum bactérien. Néanmoins, chaque fois qu'un plant observé était flétri, il fut remplacé. Nous pouvons expliquer ceci par le fait que nous devions par la suite peser 0.9-1.1g de tissus frais et que, sans remplacement, nous n'aurions pas pu atteindre cette masse.

a. Suivi de l'épidémiologie du flétrissement bactérien

A chaque date précédemment citée ci-dessus, les données ont été relevées tous les deux jours, 3 fois par semaine (lundi, mercredi et vendredi). Les dix premiers plants flétris dans les T1 des cycles longs, ont été prélevés afin de vérifier la présence de la bactérie.

Néanmoins, par la suite, pour chaque date, les plants de tomates flétris étaient laissés en terre afin de maximiser la densité d'inoculum bactérien. Les plants non flétris étaient retirés ultérieurement, à la fin de chaque suivi, et testés pour la détection de la bactérie (présence/absence) à la base des tiges.

Pour chaque traitement, les indices ci-après ont été calculés :

➤ *L'indice de maladie*

L'indice de maladie c'est-à-dire le nombre de plants flétris comparé au nombre de plants total a été évalué après chaque date T sur une période 6 semaines, à compter du premier jour de transplantation des tomates dans les jardinières.

Le nombre de plantes flétries à la date t_k nous permet de d'évaluer l'incidence de la maladie à ces mêmes dates et son évolution au cours du temps représenté par la courbe $IFB=f(t)$ avec pour chaque date (t_k) :

$$IFB(t_k) = \text{nb de plantes flétries à la date } t_k / \text{nb de plantes totales}$$

➤ *L'aire sous la courbe caractérisant la sévérité de la maladie*

La sévérité mesure la quantité de la maladie présente sur un organe de la plante. Elle consiste à dénombrer le nombre de lésions et ce, grâce à une échelle de notation (cas du mildiou de la pomme de terre par exemple). Néanmoins, les symptômes du flétrissement bactérien requièrent une autre évaluation plus adéquate

Les données des indices de flétrissement à différentes dates nous permettent d'évaluer la sévérité de la maladie à ces mêmes dates et son évolution au cours du temps représentée par la courbe $AUDPC=f(t)$ avec pour chaque date t_k :

$$AUDPC(t_k) = \sum_{i=1}^{k-1} (IFB_i + IFB_{i+1}) (t_{i+1} - t_i) / 2$$

➤ *l'indice de colonisation*

L'indice de colonisation s'évalue selon le nombre de plants colonisés par la bactérie sur le nombre total de plants. Le nombre de plants colonisés est la somme du nombre total des plants flétris à la fin de l'expérience et du nombre total d'infestations latentes (ie le nombre de plants encore vivants à la fin de l'expérience mais hébergeant la bactérie).

b. Isolement qualitatif de la bactérie sur plants de tomate

Les plants de tomate flétris sont prélevés délicatement au sein de la jardinière et introduit dans un sac imperméable. L'extraction de la bactérie se fait sous une hôte à flux laminaire permettant ainsi de travailler sous conditions stériles. Un segment de tige d'environ 1-2 cm est prélevé à l'aide d'un scalpel stérilisé en base de tige. Le segment de tige est ensuite essuyé de tous les résidus puis immergé dans l'alcool de canne à sucre à 70 degrés. Après l'avoir essuyé une seconde fois, le segment est ensuite déposé dans une boîte de Pétri contenant 5mL de milieu tampon TRIS. Le segment de tige est ensuite dilacéré. Selon le degré d'infestation du plant, il n'est pas rare d'observer un liquide blanchâtre apparaître lors du broyage de la tige qui est la preuve de la présence de la bactérie. Quinze minutes après, on étale la solution sur un milieu semi-sélectif de culture (milieu SMSA), en faisant attention d'étaler la solution comme ci-dessous (**Figure 12**). Cette méthode d'étalement en 3 secteurs permet de diluer la solution au tiers et de mieux discriminer la bactérie d'intérêt des autres microorganismes contaminants. Les boîtes sont mises à incuber pendant 3 jours à 28°C. La présence ou

l'absence de la bactérie est visible 3 jours après incubation sous forme de colonies muqueuses. Nous ne cherchons pas à quantifier la bactérie dans ces échantillons.



Figure 12 : Etalage de la solution bactérienne
sur boîte de Pétri

c. Isolement de la bactérie et comptages des colonies sur les plantes de service et le témoin positif Tomate

Au cours des dates T2, T3 et T4, 3 lots de 5-10 plantes de services par jardinière ainsi que 3 lots de 5 plants de tomates « témoins », chaque lot constituant un échantillon, ont été prélevés au hasard afin d'évaluer leur statut d'hôte. Pour chaque plante de service, nous avons donc 3 échantillons (3 REP). Des sections de tiges de 4-5 cm ont été coupées à 1-2cm du niveau du sol. Ces sections ont ensuite été redécoupées en morceaux de 1-2cm à l'aide d'un scalpel stérile, immergées dans de l'alcool de canne à 70%, puis séchées sur papier absorbant. Après prélèvement de 0.9-1.6 grammes, les tissus ont été finement broyés dans 7mL de tampon TRIS à l'aide d'un scalpel au préalable puis avec un pilon. Après macération 15-20 min, le surnageant a été prélevé et une dilution D1 au 1/10 a été effectuée (0.5mL de surnageant pour 4.5mL de tampon TRIS) ; cette dilution permet en effet de réaliser le dénombrement des colonies. Un volume de 50μL est étalé à l'aide d'un râteau sur 2 boîtes contenant le milieu de culture de SMSA. Celles-ci sont mises à incuber pendant 3 jours à 28 °C. Le nombre total des colonies et le nombre de colonies de *Ralstonia solanacearum* sont ensuite déterminés (Figure 13)

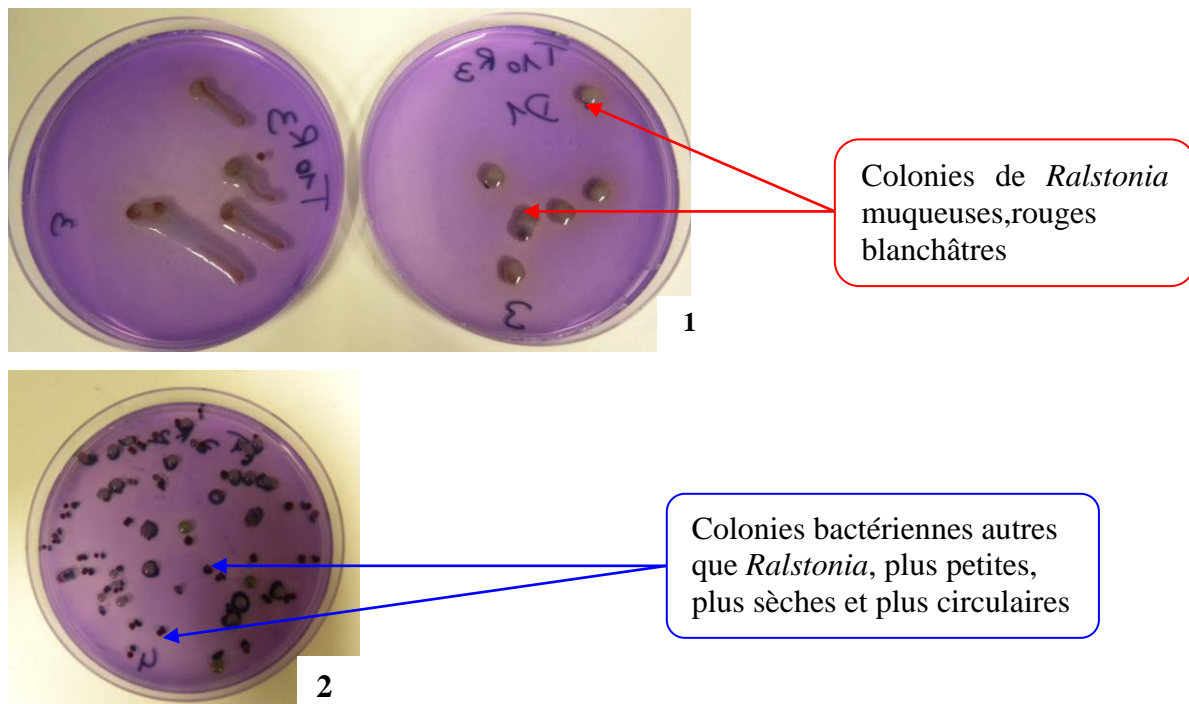


Figure 13: Boîtes de Pétri ensemencées à 28° C, traitements tomates témoins (photo 1) et traitements avec plante de services (photo 2)

3) Résultats

a. Suivi phytosanitaire sur les espèces à tester, au cours de la phase culturale

Date T1 :

Au cours de la première semaine après plantation des tomates, certains plants ont été attaqués par les chenilles de noctuelles (**Figure 14**) qui étaient présentes, à l'état larvaire ou au stade œuf, dans le sol naturel de Rivière Lézarde. D'autres plantes présentaient de la pourriture au collet. Le remplacement par des nouveaux plants sains s'est effectué dès la première semaine, dans toutes les jardinières aussi bien pour les cycles courts et longs. A J+26, l'irrigation de la serre a été défaillante et ce pendant 2 jours complets pendant lesquels les plantes n'ont pas été arrosées. Ceci a sans doute stressé certaines plantes qui ont flétri plus rapidement. Néanmoins, nous n'avons pas vu dans les résultats d'impacts notables de ce manque d'irrigation.

Ces attaques ont aussi été observées chez les deux espèces de *Crotalaria* sp. Les plants touchés ont donc été remplacés lors de la première semaine. A partir de la 2^{ème} semaine,

d'autres problèmes sont survenus. *Crotalaria juncea* a été attaquée par un insecte ravageur des feuilles, dans une seule jardinière. Deux plants de *Mucuna deeringiana* contenus dans deux jardinières voisines ont été attaqués par un champignon du genre *Sclerotium*. Ces derniers plants ont été directement arrachés, le sol traité avec de la bouillie bordelaise, produit anti-fongique, afin d'éviter toute propagation du champignon.

Trois semaines après le semis des plantes à cycle long, les plantes du genre *Crotalaria* ont été traités au *Bacillus thuriangiensis* (J+31) après avoir observé la présence de nombreux œufs et des larves de chenilles, ravageur des feuilles.

Dates T1-T2 :

Aussi, plus tardivement, les oignons ont subi des attaques de thrips (7 ème semaine) (**Figure 14**), attaque favorisée par une humidité élevée. Tous les oignons ont donc été traités (J+53 par rapport à T1) à l'insecticide Lanat et nous avons supprimé un goutteur dans les jardinières touchées afin de limiter le surplus d'eau.

Date T4 :

A J+4 des J4, nous avons traité à la bouillie bordelaise toutes les jardinières des cycles courts et longs qui présentaient à la base des plants de tomates du Sclérote. De nombreux plants de tomates ont été retirés et remplacés au cours de la semaine ayant suivi la transplantation. Cette abondance de Sclérote peut s'expliquer par le fait que l'enfouissement des plantes de services broyées 10 jours auparavant, n'a pas permis à la matière organique de se dégrader complètement (exemple du Pois Mascate qui présente à l'origine une biomasse élevée, qui se dégrade d'autant plus difficilement que la densité de semis est importante).

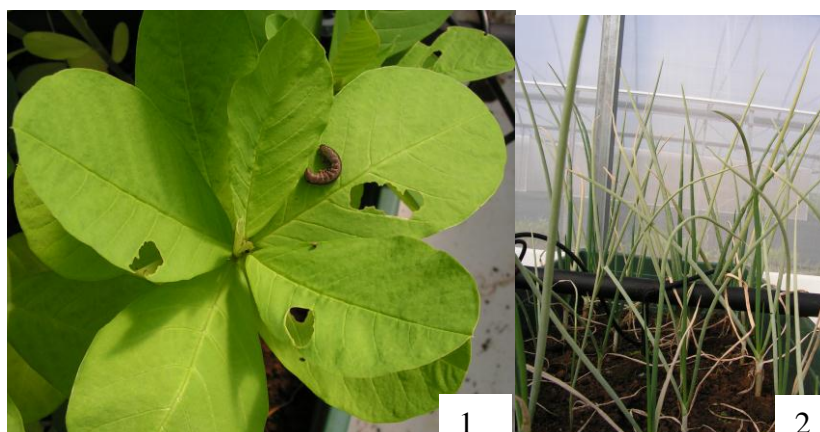


Figure 14 : Dégâts de chenilles sur *Crotalaria spectabilis* (Photo 1) et dégâts de thrips sur *Allium fistulosum* (Photo 2), équipe phytopathologie du PRAM

**b. Suivi épidémiologique du flétrissement bactérien :
détermination des indices de flétrissement bactérien, des
indices de colonisation et de la sévérité de la maladie**

Les données d'IFB, AUDPC et IC ont été analysées avec le logiciel XLSTAT (version 2009-6-02). Pour chaque traitement « plante », différents facteurs pouvant intervenir dans la variabilité des résultats, tels que l'effet « bloc » et l'effet « scarification » ont été pris en compte. Nous avons au préalable transformé les données brutes en $\text{asin}(\text{rac}(\text{IFB}))$, $\text{asin}(\text{rac}(\text{IC}))$ et $\text{rac}(\text{AUDPC})$. Les hypothèses de normalité et d'égalité des variances sont vérifiées. Une analyse ANOVA est réalisée suivi d'un test de comparaison multiple des moyennes

*i. Expérimentation en chambre climatique : effet de l'effet
scarification et de l'effet inoculation artificielle*

Au vue des résultats, il apparaît que le facteur « inoculation » ($P=0.01$) ait un effet plus significatif que le facteur « scarification » ($P=0.184$) dans l'indice de flétrissement bactérien (**Tableau 2**), mais aussi dans la sévérité de la maladie ($P=0.001$) pour l'effet « inoculation » et pour l'effet « scarification » ($P=0.121$).

Nb de jours	7	10	12	14	17	19	21	24	26	28	31	33	35	38	40	42
Scarification	N S	N S	NS	*	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
inoculation	N S	N S	**	** *	** *	***	** *	** *	** *	** *	** *	** *	** *	** *	** *	** *
Scarif.*ino c.	N S	NS	N S	*	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

*** : très hautement significatif : ($P<0.001$)
 ** : hautement significatif : ($P<0.01$)
 * : significatif : ($P<0.05$)

NS : non significatif

($P > 0.05$)

Tableau 2 : Résultats des ANOVA effectuées pour chaque date selon le modèle suivant :

IFB = effet 'scarification' + effet 'inoculation' + effet 'scarification*inoculation' + erreur

ii. Expérimentation en serre

On observera l'évolution des différents indices et des effets jusqu'à J+42. On s'intéressera plus particulièrement à la signification des facteurs testés pour cette date finale.

Modèles statistiques testés :

Le potentiel infectieux de la bactérie (Date T1) sera évalué par le modèle statistique :

IFB (respectivement AUDPC et IC) = effet « Bloc » + effet « Scarification » + effet
« Bloc*Scarification »

Le modèle statistique :

Log (CFU Rs/g de plante) = effet « Bloc » + effet « Traitement » + effet
« Bloc*Traitement » + erreur

permet d'évaluer le statut hôte des plantes de service (Dates T2 et T3). L'interaction
« Bloc*Traitement » est intégré au modèle puisque nous avons des données répétées pour
cette analyse.

L'évaluation du potentiel assainissant des plantes de services (Dates T2, T3 et T4) nécessite le
lancement des deux modèles statistiques suivants :

(1) IFB (respectivement AUDPC et IC) = effet « Bloc » + effet
« Espèce » + effet « Densité » + effet « Densité*Espèce » + Effet
« Espèce*Bloc » + erreur

(2) IFB (respectivement AUDPC et IC) = effet « Bloc » + effet
« Traitement » + erreur

Si (1) ne montre pas d'effet « Densité » significatif, on cherchera à relancer le modèle statistique en retirant cet effet et en intégrant les traitements témoins (T9, T15, T10 et T16) nécessaires à la comparaison des plantes de service avec les références Sol nu (T9 et T15) et Culture préalable de tomates (T10, T16). Ceci sera le modèle (2). Si cet effet est significatif, on séparera l'analyse statistique en fonction de la densité, et on relancera ces 2 modèles en intégrant les traitements T9 et T10.

En l'absence de répétitions de données, nous ne pouvons pas introduire l'effet « Bloc*Traitement » dans (2).

➤ Cas des cycles longs (Expérimentation 1)

* Evaluation du potentiel infectieux du sol au temps initial (jardinière N°1)

Pour la jardinière N°1 (date T1), le modèle IFB (respectivement AUDPC et IC)= Effet « bloc »+ Effet « Scarification »+ Effet « Bloc*Scarification » a été choisi.

▪ Incidence du flétrissement bactérien (IFB)

Les graphiques ci-dessous (**Figures 15 et 16**) montrent le développement de l'incidence de la maladie selon les deux facteurs testés, « Scarification » et « Bloc ».

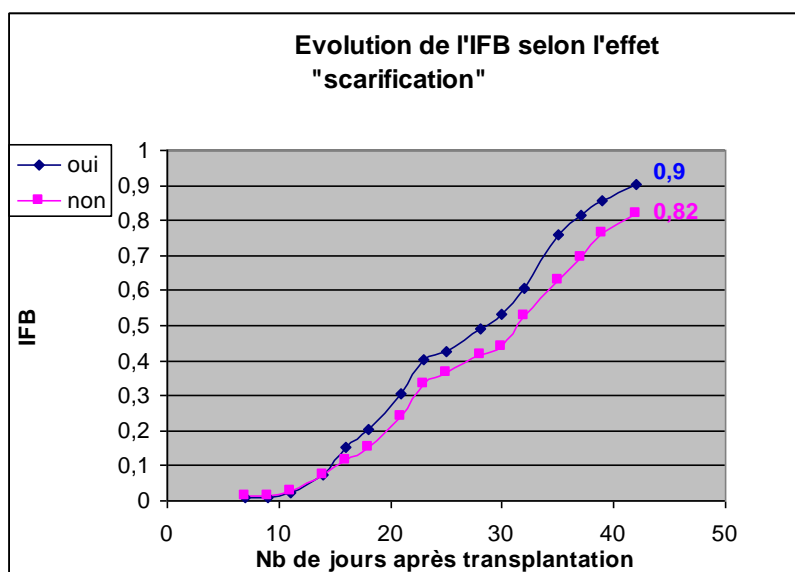


Figure 15 : Suivi de l'IFB CL J1 selon l'effet scarification

Nous nous attendons à ce que le facteur « Scarification » ait un impact sur l'incidence de la maladie. On peut remarquer à la **figure 15** que l'écart d'IFB entre les plants scarifiés et non scarifiés est nul jusqu'à J+16 puis augmente jusqu'à J+25 pour rester stable jusqu'à la fin des 6 semaines de culture. Nous obtenons à **J+42**, un indice de maladie relativement proche pour les plantes scarifiées (90%) et celles non scarifiées (82%).

Les courbes (**Figure 16**) relatives aux blocs 1, 2 et 3 ne présentent pas de différences notables (à J+42, IFB respectivement 1, 27%, 22%, 22%).

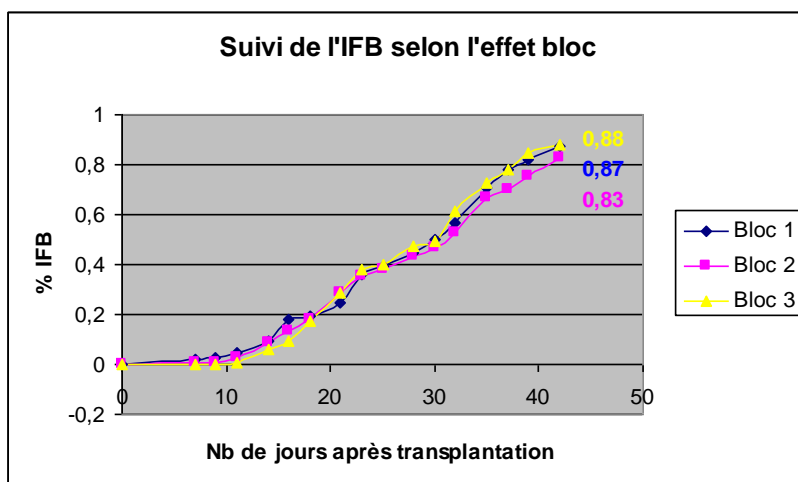
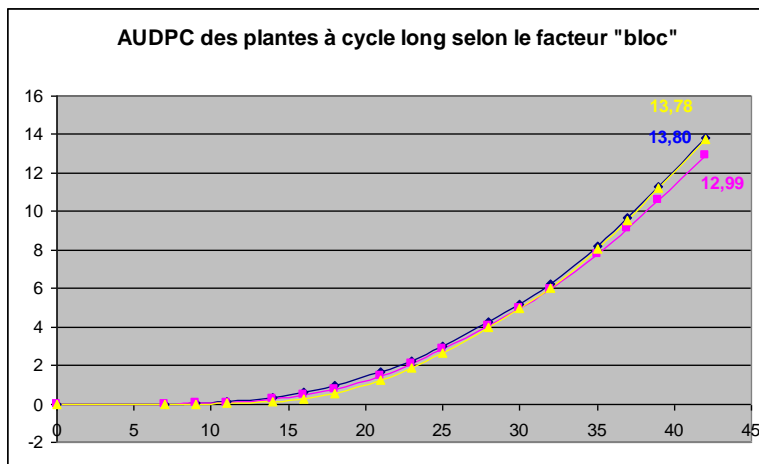
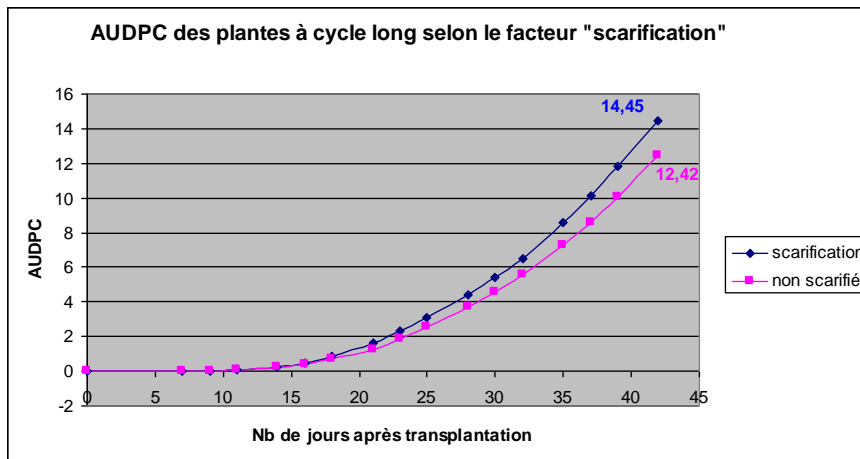


Figure 16 : Suivi de l'IFB CL J1 selon le facteur bloc

L'analyse statistique ne montre pas de différences significatives ($P > 0.05$) quelle que soit la date d'observation et quel que soit le facteur étudié. A J+42, les effets « Bloc » ($P = 0.662$), « Scarification » ($P = 0.163$) et « Bloc*Scarification » ($P = 0.320$) ne sont pas significatifs.

- Sévérité de la maladie via le calcul de l'aire sous la courbe (AUDPC)

Les Figures présentés ci-dessous montrent l'évolution des valeurs AUDPC pendant 6 semaines (**Figures 17 et 18**).



Les courbes de sévérité de maladie semblent, comme pour l'IFB, très proches les une des autres, en prenant aussi bien l'effet « Bloc » (1 : 13.80 ; 2 : 12.99 et 3 : 13.78) (**Figure 18**) que l'effet

« Scarification »

(scarifiées : 14.45 ; non scarifiées : 12.42) (**Figure 17**).

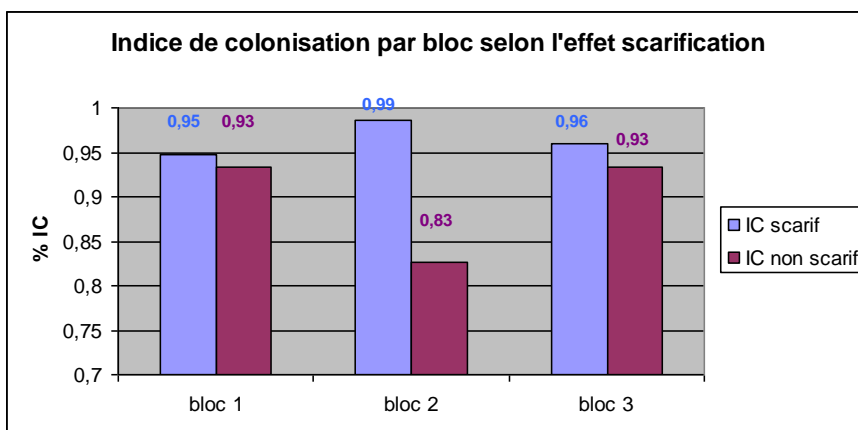
Figures 17 et 18: Suivi de l'AUDPC sur les plants de tomates CL J1 selon les facteurs

« scarification » et « bloc »

L'analyse statistique montre comme pour l'IFB, que les facteurs testés à chaque date, ne sont pas significatifs ($P > 0.05$) et donc, n'ont pas effet sur la sévérité de la maladie.

A J+42, les effets « Bloc » ($P=0.840$), « Scarification » ($P=0.177$) et « Bloc*Scarification » ($P=0.650$) ne sont pas significatifs.

■ Indice de colonisation (IC)



Les histogrammes ci-contre (**Figure 19**) montrent les valeurs IC (%) obtenus dans les blocs 1, 2, 3 et avec ou sans scarification obtenues après 6 semaines de culture des tomates.

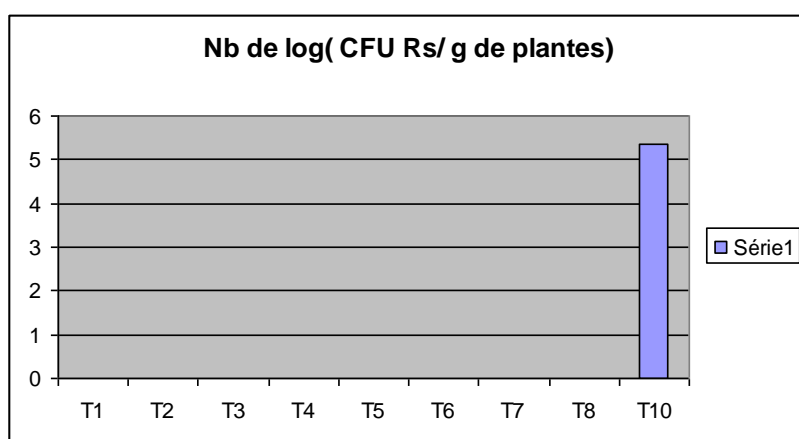
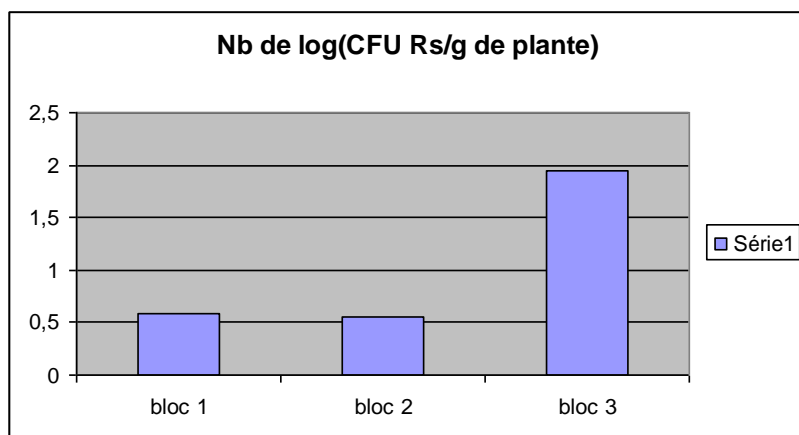
Figure 19 : Indice de colonisation à **J+42** sur les plants de tomates **CL J1** selon les effets bloc et scarification

Les résultats de l'analyse statistique ont démontré à **J+42** que les effets « Bloc » ($P=0.951$) et effet « Scarification » ($P=0.106$) et effet « Bloc*Scarification » ($P=0.325$) ne sont pas significatifs.

* *Evaluation du statut hôte et du potentiel assainissant des plantes de service à la mi-phase culturale (jardinière N°2)*

-Evaluation du statut hôte des plantes de services

L'évaluation du statut hôte des plantes de service s'est faite par comptage bactérien. Pour les traitements T10, les colonies de *Ralstonia solanacearum* étaient trop importantes pour être dénombrées. Afin de pouvoir effectuer une analyse statistique, nous avons donc décidé d'intégrer une référence pour ces traitements, qui est de 200 CFU/g de sol. De plus, les données observées présentant une forte disparité, nous avons décidé d'utiliser le log. Cette méthode sera répétée pour les cycles courts et pour la date T3.



Le graphe ci-contre (**Figure 20**) montre une différence notable entre le bloc 3 et les autres blocs.

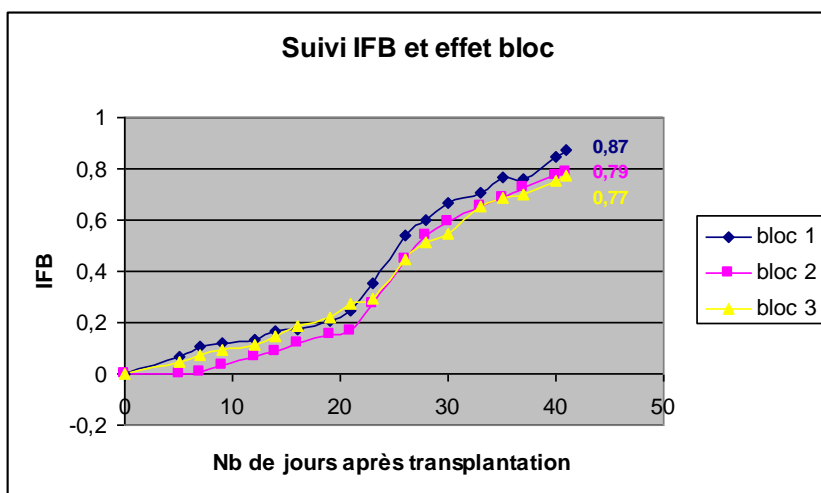
Le graphe ci-après (**Figure 20**) montre quant à lui la présence importante de colonies de *Ralstonia solanacearum* dans le traitement T10. Aucune des plantes de service n'héberge *Ralstonia solanaeaerum* à la date T2.

Figure 20 : Nombre de colonies **CL J2** selon l'effet « Bloc » et « Traitement »

L'analyse statistique montre que les effets « Traitement » et « Bloc » et « Bloc*Traitement » sont très significatifs ($P=0.0001$).

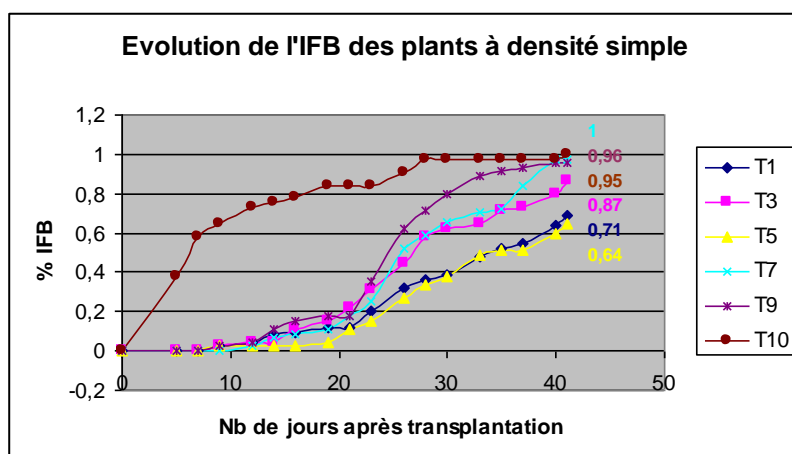
-Evaluation du potentiel assainissant des plantes de services

- Incidence du flétrissement bactérien (IF)



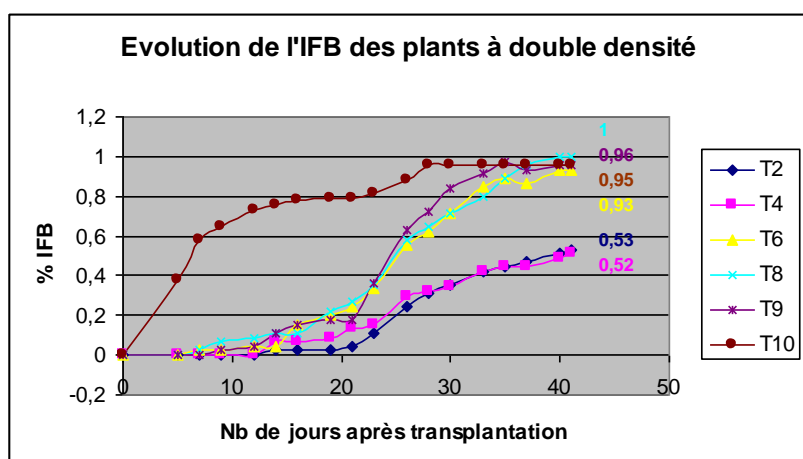
La **Figure 21** ci-contre montre une progression linéaire de la maladie jusqu'à J+20. A partir de cette date, l'incidence de maladie s'accélère (i.e. plus de plants flétris par jour) pour atteindre à **J+41**, un IFB compris entre 0.77 et 0.87.

Figure 21 : Incidence de flétrissement bactérien dans les jardinières **CL T2** selon l'effet bloc



Nous avons décidé de séparer les plantes de services selon la densité de semis (**Figure 22**), pour une meilleure lecture des courbes.

La courbe T10 (traitement Témoin Tomate) montre un IFB qui progresse rapidement atteignant un flétrissement de 80% dès J+16. Dès J+28, l'incidence de maladie est quasi-totale (95%).



La courbe T9 (traitement Témoin sol nu) et les autres courbes relatives aux traitements T6 et T8 ont un IFB assez faible, qui commence à progresser rapidement à partir de J+20 pour atteindre un IFB de 96% (T9), et 93% (T6) et 100% (T8).

A **J+41**, seuls les traitements T2 et T4 présentent un IFB proches de 50%

Figure 22 : Incidence de flétrissement bactérien dans les jardinières **CL T2** en densité simple et double

(1)

L'analyse statistique montre que les effets « Bloc » et « Densité » et « Espèce*Bloc » ne sont pas significatifs quelque soit la date observée. Néanmoins l'effet « Espèce » est significatif au date J+26 ($P=0.036$), J+28 ($P=0.02$) et J+30 ($P=0.024$), J+33 ($P=0.035$), J+37 ($P=0.028$), J+40 ($P=0.002$) et **J+41** ($P=0.004$) (**Tableau 3**). Ceci signifie qu'à ces dates-là, certaines plantes de services se distinguent des autres dans l'incidence de la maladie. Ceci se démontre statistiquement grâce au test de Newman-Keuls (**Tableau 4**). L'incidence de maladie évaluée sur les plants de tomates, après une culture d'*Allium fistulosum* est significativement plus élevée que celui évalué sur tomates après une culture de *Mucuna deeringiana*, de *Crotalaria juncea* et de *Crotalaria spectabilis*.

	5	7	9	12	14	16	19	21	23	26	28	30	33	35	37	40	41
Bloc	N S	N S	N S	N S	N S	N S	N S	N S	N S	N S	N S	N S	N S	N S	N S	N S	NS
Espèce	N S	N S	N S	N S	N S	N S	N S	N S	N S	*	*	*	*	N S	*	*	0.004
Densité	N S	N S	N S	N S	N S	N S	N S	N S	N S	N S	N S	N S	N S	N S	N S	N S	NS
Espèce*Densité	N S	N S	N S	N S	N S	N S	N S	N S	N S	N S	*	*	N S	N S	N S	N S	NS
Espèce*Bloc	N S	N S	N S	N S	N S	N S	N S	N S	N S	N S	N S	N S	N S	N S	N S	N S	NS

*** : très hautement significatif :

($P<0.001$)

** : hautement significatif :

($P<0.01$)

* : significatif :

($P<0.05$)

NS : non significatif

($P>0.05$)

Tableau 3 : Résultats des ANOVA des AUDPC des **CL J2** testés sur le modèle suivant :

IFB = effet « Bloc » + effet « Espèce » + effet « Densité » + effet « Densité*Espèce »+ Effet « Espèce*Bloc »+ erreur

Modalité	Moyenne estimée (Asin(Rac(IFB)))	Groupes
Allium	1,571	A
Crotalaria S.	1,160	B
Crotalaria J.	1,007	B
Mucuna	0,942	B

Tableau 4 : Test de Newman-Keuls des IFB à **J+41** des **CL J2** sur l'effet espèce selon le modèle suivant :

$$\text{IFB} = \text{effet « Bloc »} + \text{effet « Espèce »} + \text{effet « densité »} + \text{effet « Densité*Espèce »} + \text{Effet « Espèce*Bloc »} + \text{erreur}$$

Nous remarquons dans l'analyse statistique ci-dessus que l'effet densité n'est jamais significatif. De plus, les traitements témoins T9 et T10 ne présentant pas de double densité contrairement aux autres traitements-plantes de services, il n'était donc pas possible de les prendre en compte dans le modèle statistique.

(2)

Il est donc logique de relancer le second modèle statistique en retirant l'effet « Densité » et en introduisant ainsi les traitements T9 et T10. Il aurait été intéressant de tester l'effet « Bloc*Traitement », néanmoins, n'ayant pas de données répétées, nous ne pouvons pas intégrer cet effet.

L'analyse statistique des données d'IFB montre que l'effet « Bloc » n'est pas significatif ($P > 0.05$) L'effet « Traitement » est quant à lui hautement significatif et ce, dès le 5^{ème} jour après transplantation des tomates. A **J+41**, nous obtenons une probabilité de $P = 0.008$ (**Tableau 5**).

A **J+41**, nous observons que l'*Allium fistulosum* (simple T7 et double densité T8) a la plus importante incidence de maladie (il surpasse T9 et T10) (**Figure 22**). *Crotalaria juncea* (double densité T4) présente la plus faible valeur d'IFB (**Figure 22**). Le test de Newman-Keuls permet de distinguer précisément T7 de T2 et de T4 ainsi que T8 de T4 (**Tableau 6**). Néanmoins, ayant inclus les traitements T9 et T10, nous remarquons qu'aucune des plantes testée ne peut se distinguer des témoins à une date donnée.

	5	7	9	12	14	16	19	21	23	26	28	30	33	35	37	40	41
Bloc	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	0.571
Traitement	**	*	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	**	***	0.008

Tableau 5 : Résultats des ANOVA des IFB sur les **CL J2** effectuées pour chaque date selon le modèle suivant :

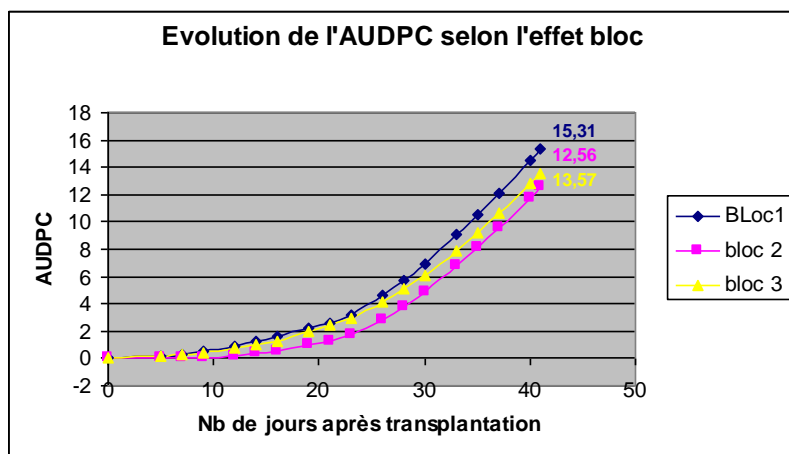
$$\text{IFB} = \text{effet « Bloc »} + \text{effet « Traitement »} + \text{erreur}$$

Modalité	Moyenne estimée Asin(Rac(IFB))(41)	Groupes		
T7	1,571	A		
T8	1,571	A	B	
T9	1,446	A	B	C
T10	1,394	A	B	C
T6	1,359	A	B	C
T3	1,216	A	B	C
T1	1,038	A	B	C
T5	0,960	A	B	C
T2	0,846		B	C
T4	0,798			C

Tableau 6 : Test de Newman-Keuls des IFB à **J+41** sur les **CL J2** selon le modèle suivant :

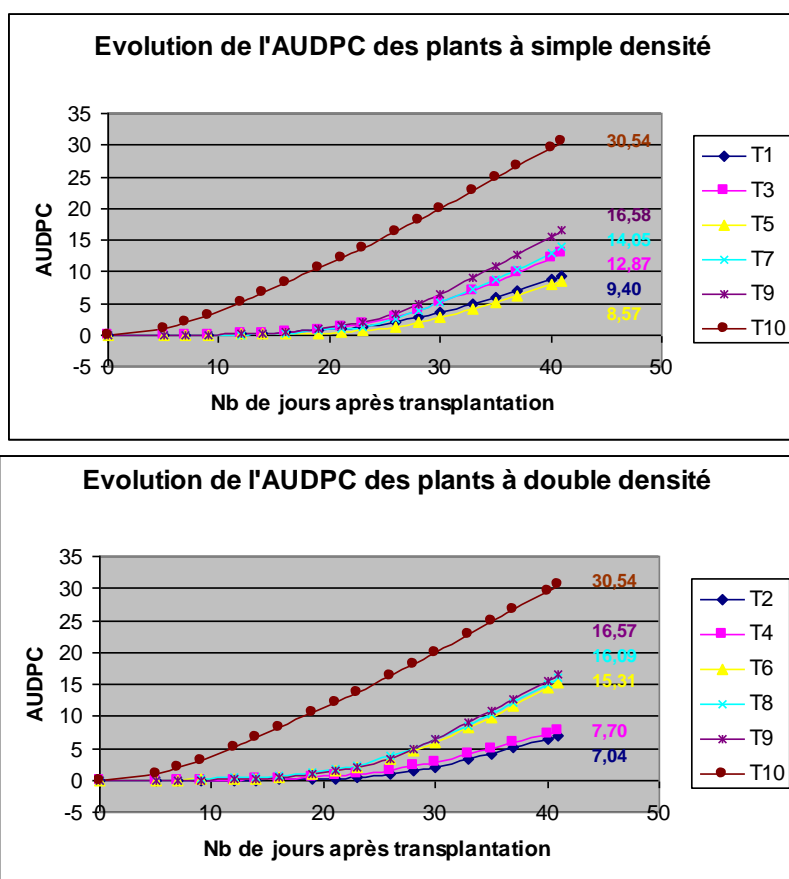
$$\text{IFB} = \text{effet « Bloc »} + \text{effet « Traitement »} + \text{erreur}$$

- *Sévérité de la maladie via le calcul de l'aire sous la courbe (AUDPC)*



Le graphe ci-contre (**Figure 23**) ne semble pas montrer de différence dans la sévérité de la maladie selon les blocs quelque soit la date donnée, notamment en **J+41** (1 : 15.31 ; 2 : 12.56 et 3 : 13.57).

Figure 23 : Suivi de l'AUDPC des **CL J2** selon l'effet bloc



Les graphes (Figure 24) ne semblent pas montrer d'effet de la densité de semis ni de distinction entre les plantes de service. Néanmoins, nous remarquons que la sévérité de la maladie du traitement T10 se déclenche rapidement et intensivement, contrairement aux autres traitements.

Figure 24 : Suivi de l'AUDPC des CL J2 selon l'effet traitement

(1)

L'analyse statistique montre que seul l'effet « Espèce » est significatif à J+41 ($P=0.045$) (Tableau 7).

Comparativement aux résultats de l'IFB, on remarque que l'*Allium fistulosum* diffère de *Mucuna deeringiana* i.e., la sévérité de la maladie évaluée sur les plants de tomate est significativement différente après culture d'oignon péyi qu'après culture de Pois Mascate (Tableau 8). Ceci signifie que l'intensité et la vitesse de la progression de la maladie au sein des jardinières J2 sont significativement différentes pour l'oignon péyi et le Pois Mascate (cas de l'AUDPC) alors qu'à une date ponctuelle finale (J+41), il y a davantage de plants flétris avec la culture d'oignon péyi qu'avec le Pois Mascate et les Crotalaires (cas de l'IFB).

	7	9	12	14	16	19	21	23	26	28	30	33	35	37	40	41
Bloc	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Espèce	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	*	*	0.045
Densité	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Traitement*Densité	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	0.055	*	*	NS	NS	NS

Tableau 7 : Résultats des ANOVA des AUDPC sur les **CL J2** effectuées pour chaque date selon le modèle suivant : IFB = effet « Bloc » + effet « Espèce » + effet « Densité » + effet « Espèce*Densité »+ effet « Espèce*Bloc »+ erreur

Modalité	Moyenne estimée Rac(AUDPC)(41)	Groupes	
Allium F.	3,878	A	
Crotalaria S.	3,365	A	B
Crotalaria J.	3,148	A	B
Mucuna	2,812		B

Tableau 8 : Test de Newman-Keuls des AUDPC sur les **CL J2 à J+41** selon le modèle suivant :

IFB = effet « Bloc » + effet « Espèce » + effet « Densité » + effet « Espèce*Densité »+ effet « Espèce*Bloc »+ erreur

(2)

L'analyse statistique, sans l'effet « Densité », montre que l'effet « Traitement » est très significatif et ce, dès le 5^{ème} jour après transplantation. Ceci peut s'expliquer par le fait que la sévérité de la maladie est beaucoup plus élevée dans le traitement T10 (**Figure 24 et Tableau 9**). Le test de Newman-Keuls permet ainsi de regrouper les traitements plantes de services avec le traitement témoin T9 « sol nu » entre eux. Le traitement T10 forme quant à lui un groupe à part (**Tableau 10**).

	5	7	9	12	14	16	19	21	23	26	28	30	33	35	37	40	41
Bloc	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Traitement	**	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***

Tableau 9 : Résultats des ANOVA des AUDPC des **CL J2** effectuées pour chaque date selon le modèle suivant : IFB = effet « Bloc » + effet « Traitement » + erreur

Modalité	Moyenne estimée Rac(AUDPC)(41)	Groupes	
T10	5,500	A	
T9	4,068		B
T8	4,007		B

T6	3,909	B
T7	3,748	B
T3	3,566	B
T1	3,016	B
T5	2,821	B
T4	2,729	B
T2	2,608	B

Tableau 10 : Test de Newman-Keuls des AUDPC à **J+41** des **CL J2** selon le modèle suivant :

$$\text{IFB} = \text{effet « Bloc »} + \text{effet « Traitement »} + \text{erreur}$$

Même si nous ne pouvons pas différencier les traitements entre eux à J+41 pour l'IFB, nous remarquons néanmoins que le traitement T10 est très significativement différent pour l'AUPDC, et ce, dès J+5. Ceci s'explique par le fait que la culture de tomate préalablement transplantée en J1 a pu multiplier l'inoculum bactérien et a ainsi accéléré la progression de la maladie dès les premiers jours après transplantation.

- Indice de colonisation (IC)

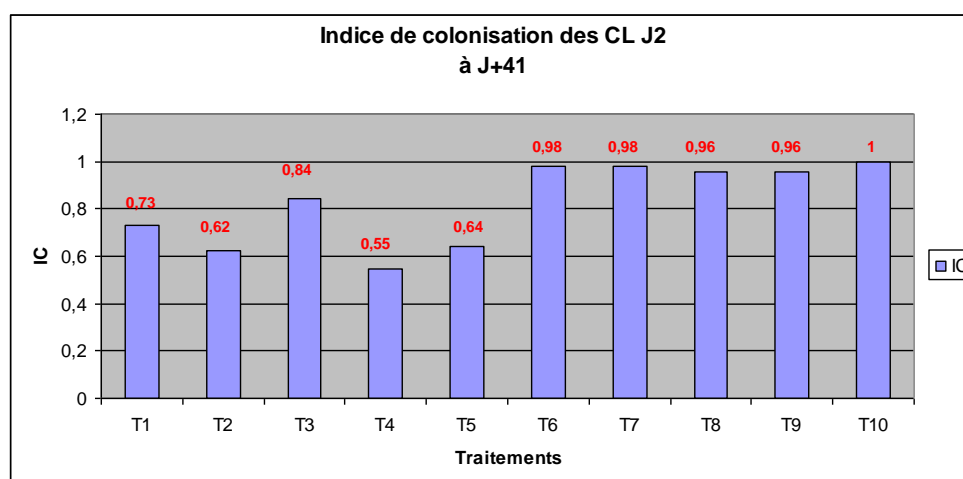


Figure 25 : Indice de colonisation des **CL J2** à **J+41**.

En lançant le modèle avec l'effet « Densité », nous remarquons que seul l'effet « Espèce » est significatif ($P=0.029$). Néanmoins, le test de Newman-Keuls ne permet que de distinguer l'oignon péyi entre le Pois Mascate et la Crotalaire juncea (**Tableau 11**)

Le modèle statistique lancé sans l'effet « Densité » montre que le facteur « Traitement » est significatif ($P=0.02 < 0.05$) contrairement à l'effet « Bloc » ($P=0.4$). Aucun regroupement de plantes n'est fait (**Tableau 12**).

Modalité	Moyenne estimée Rac(IC)	Groupes	
Allium	1,465	A	
Crotalaria Sp	1,222	A	B
Mucuna	1,023		B
Crotalaria J.	1,006		B

Tableau 11 : Test de Newman-Keuls des AUDPC sur les **CL J2** : Comparaison des modalités de l'effet espèce selon le modèle suivant :

IFB = effet « Bloc » + effet « Espèce » + effet « Densité » + effet « Espèce*Densité » + effet « Espèce*Bloc » + erreur

Modalité	Moyenne estimée	Groupes
T10	1,571	A
T6	1,484	A
T7	1,484	A
T8	1,446	A

T9	1,446	A
T3	1,178	A
T1	1,044	A
T2	1,002	A
T5	0,960	A
T4	0,834	A

Tableau 12 : Test de Newman-Keuls des AUDPC sur les **CL J2** : Comparaison des modalités de l'effet espèce selon le modèle suivant :

IFB = effet « Bloc » + effet « Traitement » + erreur

➤ *Cas des cycles courts (Expérimentation 2)*

* *Evaluation du potentiel infectieux du sol au temps initial (jardinière N°1)*

▪ *Incidence du flétrissement bactérien (IFB)*

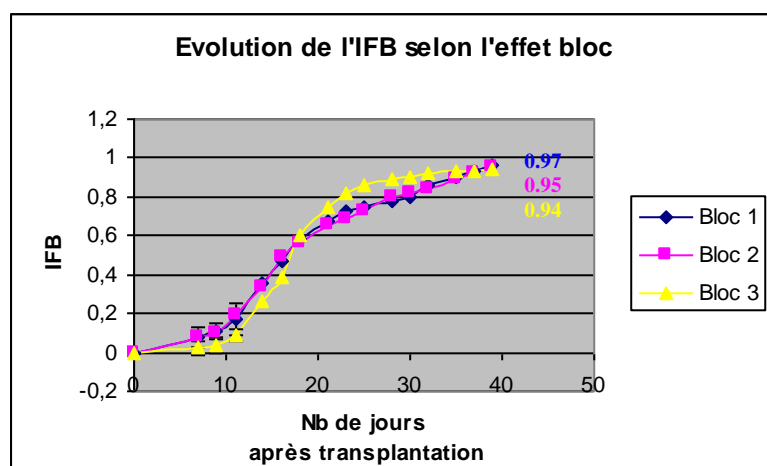


Figure 26 : Incidence de flétrissement bactérien des **CC J1** selon l'effet bloc

Les courbes ci-contre et ci-dessous (**Figures 26 et 27**) ne montrent aucune différence des deux effets testés.

A **J+39**, aucune distinction franche n'est possible entre les blocs (1 : 97% ; 2 : 95% et 3 : 94%), ni entre les plantes scarifiées (96%) et non scarifiées (95%).

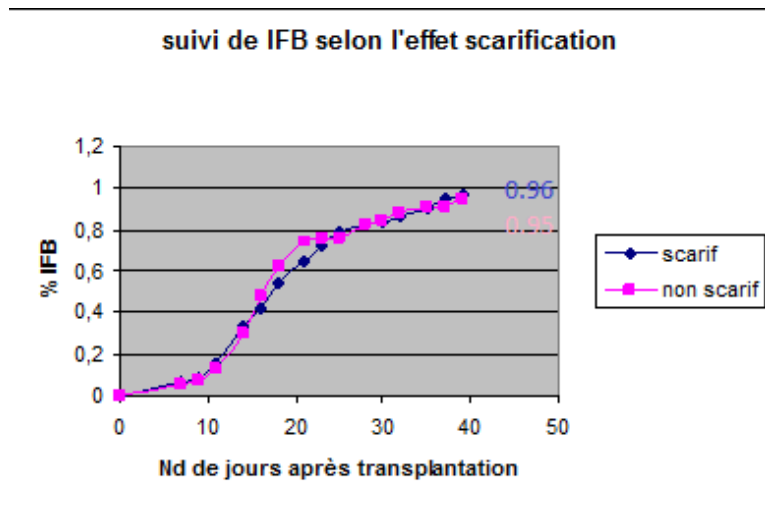


Figure 27 : Evolution de l'IFB des CC J1 selon l'effet scarification

A J+39, nous observons que les effets « Bloc » ($P=0.589$), « Scarification » ($P=0.979$) et « Bloc*Scarification » ($P=0.203$) ne sont pas significatifs.

De plus, l'analyse statistique ne fait apparaître aucun résultat significatif quelque soit la date d'observation et le facteur testé ($P>0.05$).

- Sévérité de la maladie via le calcul de l'aire sous la courbe (AUDPC)

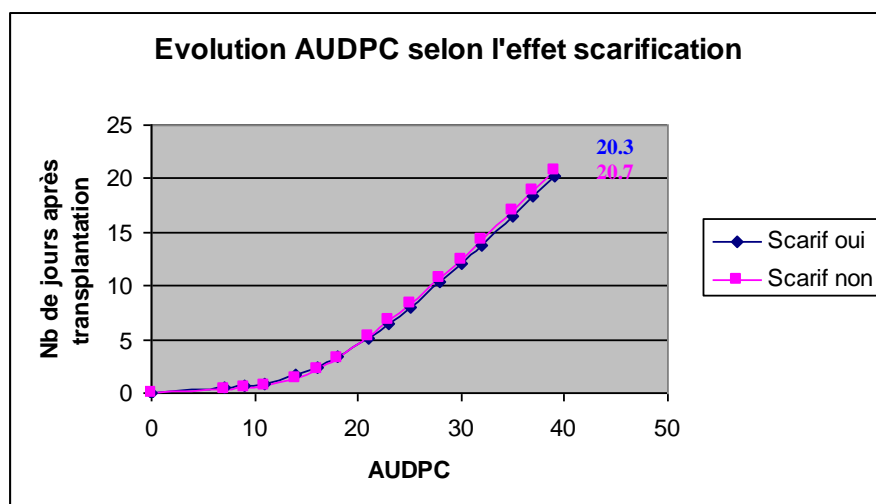


Figure 28 : Evolution de l'AUDPC des CC J1 selon l'effet scarification

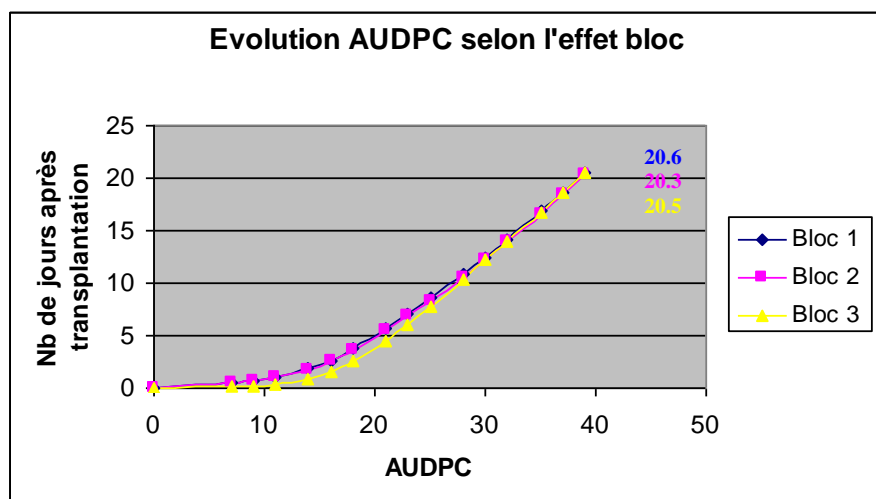


Figure 29 : Evolution de l'AUDPC des CC J1 selon l'effet bloc

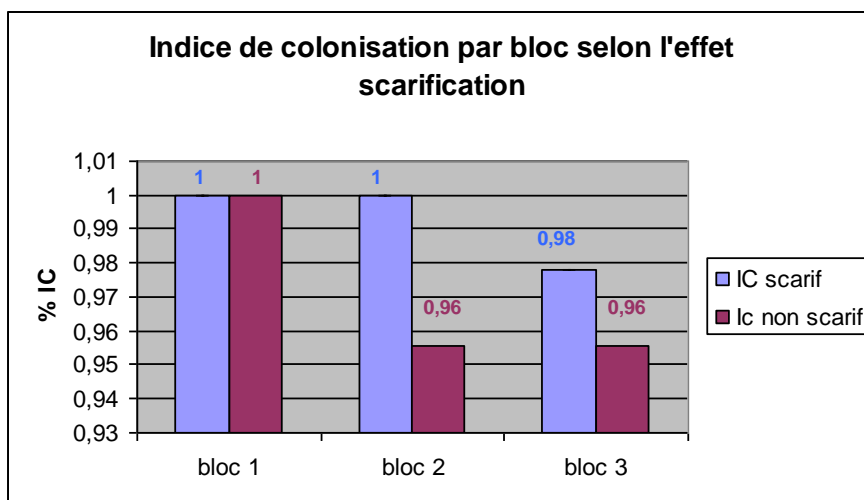
Les courbes ci-contre (**Figures 28 et 29**) montrent une grande proximité des valeurs d'AUDPC pour les deux effets testés.

Ainsi, à J+39, nous obtenons pour l'effet « Scarification » une AUDPC de 20.3 (plants scarifiés) et de 20.7 (plants non scarifiés). Nous obtenons pour l'effet « Bloc » une AUDPC de 20.6 (1), 20.3(2) et 20.5(3).

L'ANOVA ne montre par ailleurs aucun résultat significatif (hors à J+7, pour l'effet « bloc », nous obtenons $P=0.039 < 0.05$) quelque soit la date d'observation et le facteur testé ($P > 0.05$).

A J+39, nous observons que les effets « Bloc » ($P=0.967$), « Scarification » ($P=0.905$) et « Bloc*Scarification » ($P=0.577$) ne sont pas significatifs.

▪ Indice de colonisation (IC)



Les histogrammes ci-contre (**Figure 30**) ne montrent pas de différences entre les plants scarifiés (respectivement non scarifiés) de chaque bloc.

De plus, quelque soit le bloc observé, l'indice de colonisation des deux types de plants n'est pas dissemblable.

Figure 30 : Indice de colonisation sur les plants de tomates des **CC J1** selon les effets bloc et scarification

L'analyse statistique démontre qu'aucun effet n'est significatif (Bloc : $P=0.229>0.05$; Scarification : $P=0.250>0.05$; Bloc*Scarification : $P=0.679>0.05$).

* *Evaluation du statut hôte et du potentiel assainissant des plantes de service à la mi-phase culturale (jardinière N°2)*

-Evaluation du statut hôte des plantes de services

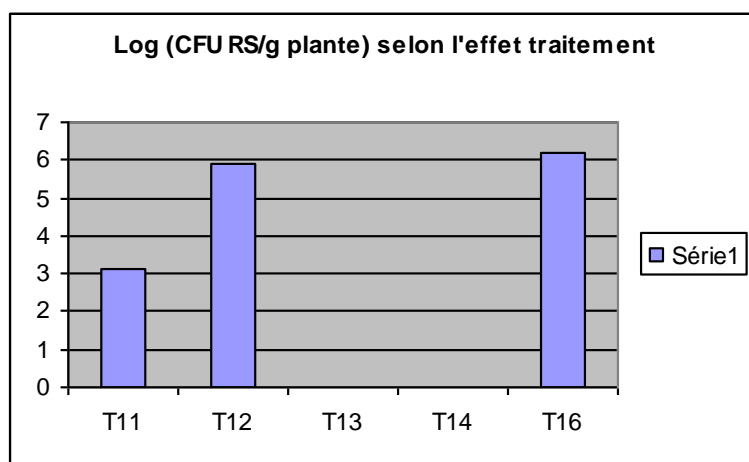


Figure 31 : Evaluation du statut hôte des **CC J2** selon l'effet traitement

Les données récoltées ont été transformées en log étant donné la forte disparité de CFU de Rs/g de plante, selon les traitements.

Nous obtenons le graphe ci-contre (**Figure 31**) qui montre parfaitement le statut non hôte du radis fourrager

Néanmoins, l'œillet d'Inde en double densité présente un nombre important de CFU Rs/g de plante, quasi- égale au nombre de CFU dénombrés dans le traitement témoin « Tomate ».

L'œillet d'Inde en simple densité présente deux fois moins de CFU de Rs/g de plante qu'en double densité.

L'analyse statistique montre un effet traitement hautement significatif ($P=0.0001<0.05$). Le radis fourrager n'est pas hôte pour la bactérie contrairement à l'œillet d'Inde (**Tableau 13**).

Le test de Newman-Keuls démontre également la présence de 3 groupes distincts.

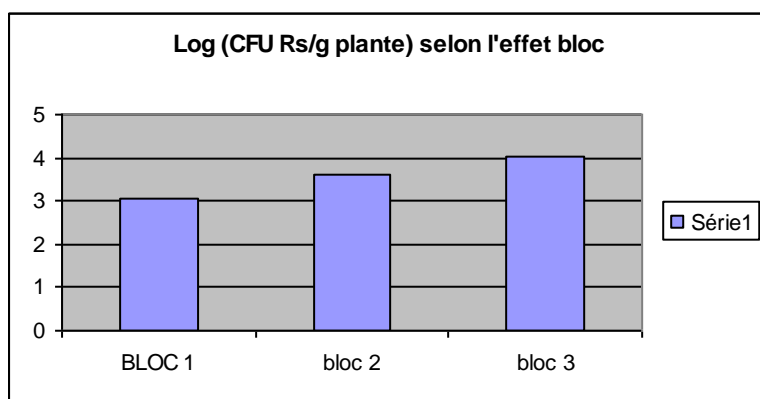
Nous pouvons ainsi classer les plantes selon leur statut hôte :

Radis fourrager < Œillet d'Inde < Tomate

Modalité	Moyenne estimée	Groupes
Tomate	6,213	A
Tagetes patula	4,500	B
Raphanus sativus cv Melody	0,000	C

Tableau 13 : Test de Newman-Keuls : Comparaisons des modalités de l'effet traitement pour les **CC J2** selon le modèle suivant :

$\text{Log (CFU Rs/g plante)} = \text{Effet « Bloc »} + \text{Effet « Traitement »} + \text{Effet « Bloc*Traitement »} + \text{erreur}$

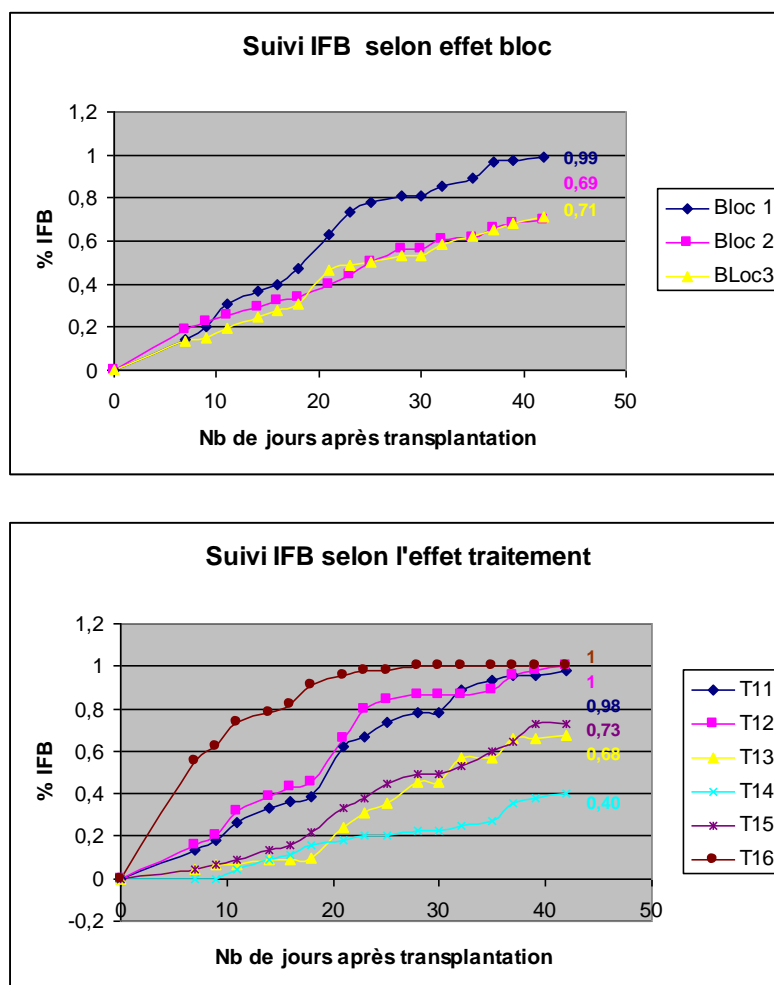


Le graphe ci-contre (**Figure 32**) ne montre pas de différence de CFU de Rs/g de plante selon le bloc. En effet l'analyse statistique révèle que le facteur « bloc » n'est pas significatif ($P=0.335>0.05$)

Figure 32 : Evaluation du statut hôte des PdS **CC J2** selon l'effet bloc

- Evaluation du potentiel assainissant des plantes de services

▪ Incidence du flétrissement bactérien (IFB)



Le graphe ci-contre (**Figure 33**) montre une progression relativement linéaire de l'IFB. Nous pouvons également remarquer à **J+42** que l'IFB du bloc 1 est plus importants (99%) que ceux des blocs 2 (69%) et 3 (71%).

Le graphe ci-après (**Figure 33**) montre que le radis fourrager présente un IFB relativement faible à **J+42** (68% -densité simple-et 40%-densité double- contrairement à l'œillet d'Inde qui atteint un IFB moyen (T11 : 100% et T12 : 98%).

Nous observons également que le traitement témoin « Tomate » T10 a atteint un flétrissement total dès j+23 mais que le traitement « sol nu » T9 présente un IFB de 73% à **J+42**.

Figure 33 : Suivi de l'IFB CC J2 selon les effets bloc et traitement

(1)

L'analyse statistique montre que l'effet « Espèce » est significatif dès J+7, et ce jusqu'à la fin de l'essai J2 ($P=0.013 < 0.05$ à **J+42**) (**Tableau 14**). A **J+42**, le test de Newman-Keuls permet alors de distinguer entre elles les deux plantes de services à cycle court, *Tagetes Patula* (IFB de 99%) et *Raphanus sativus* (IFB de 40%) (**Tableau 15**). Tous les autres facteurs testés ne sont pas significatifs, et ce, quelque soit la date d'observation.

	7	9	11	14	16	18	21	23	25	28	30	32	35	37	39	42
Bloc	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Espèce	*	*	*	*	*	NS	*	*	*	*	*	*	*	NS	*	0.013

Densité	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Espèce*Densité	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

Tableau 14 : Résultats des ANOVA des IFB sur les **CC J2** testés sur le modèle suivant :

IFB = effet « Bloc » + effet « Espèce » + effet « Densité » + effet « Densité*Espèce » + Effet
« Espèce*Bloc » + erreur

Modalité	Moyenne estimée Asin(Rac(IFB))(42)	Groupes
Tagetes Patula	0,877	A
Raphanus sativus	0,612	B

Tableau 15 : Test de Newman-Keuls des IFB sur les **CC J2 à J+42** selon le modèle
suivant :

IFB = effet « Bloc » + effet « Espèce » + effet « Densité » + effet « Espèce*Densité » + effet
« Espèce*Bloc » + erreur

(2)

L'analyse statistique relancée sans l'effet « Densité » montre que l'effet « Bloc » n'est jamais significatif contrairement à l'effet « Traitement » qui est significatif dès J+7 jusqu'à J+35. Or à **J+42**, l'effet « Traitement » n'est plus significatif ($P=0.097$) (**Tableau 16**). Même s'il semble, au vue des valeurs observées que les IFB des traitements T16, T11-12 sont relativement proches, le test de Newman-Keuls ne distingue aucun traitement spécifique, à savoir T14 par exemple (**Tableau 17**).

	7	9	11	14	16	18	21	23	25	28	30	32	35	37	39	42
Bloc	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Traitement	***	**	***	**	**	**	*	*	**	**	**	*	*	NS	NS	0.097

Tableau 16 : Résultats des ANOVA des IFB sur les **CC J2** effectuées pour chaque date selon
le modèle suivant :

IFB = effet « Bloc » + effet « Traitement » + erreur

Modalité	Moyenne estimée Asin(Rac(IFB))(42)	Groupes
T12	0,881	A
T16	0,881	A
T11	0,873	A

T15	0,752	A
T13	0,723	A
T14	0,501	A

Tableau 17: Test de Newman-Keuls des IFB sur les **CL J2 à J+42** selon le modèle suivant :

IFB = effet « Bloc » + effet « Traitement » + erreur

- *Sévérité de la maladie via le calcul de l'aire sous la courbe (AUDPC)*

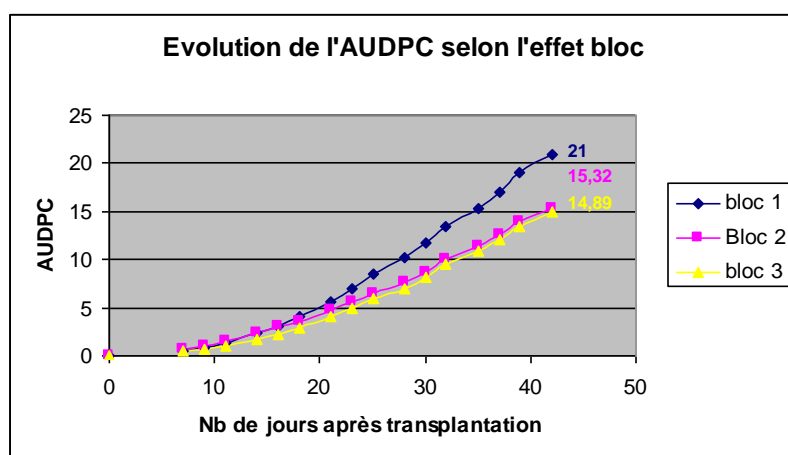


Figure 34 : Evolution de l'AUDPC des **CC J2** selon l'effet bloc

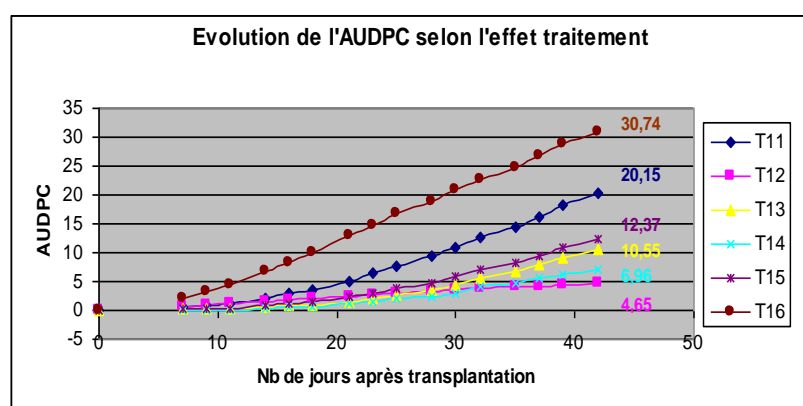


Figure 35: Evolution de l'AUDPC des **CC J2** selon l'effet traitement

Le graphe ci-contre (**Figure 34**) ne permet pas de distinguer les blocs entre eux jusqu'à J+21. A partir de cette date, la sévérité de la maladie s'accroît davantage dans le bloc 1.

De même, le graphe ci-après (**Figure 35**) permet de distinguer précisément le traitement T16 dès J+7, qui atteint la sévérité la plus élevée à **J+42**. Le traitement T11 se distingue également des autres traitements.

Néanmoins, les résultats d'IFB pour l'œillet d'Inde diffèrent de ceux présentés ci-contre. En effet, la plante en double densité (T12) présente une incidence totale de 100% (**Figure 33**) à **J+42** alors que nous observons, à la même date, la plus faible sévérité de maladie (T12 : 4.65, **Figure 35**)

(1)

L'analyse statistique montre que seul l'effet « Espèce » est significatif quelque soit la date d'observation mais également pour la date finale **J+42** ($P=0.039$) (**Tableau 18**). De même que pour les résultats d'IFB, nous distinguons avec le test de Newman-Keuls les deux plantes de service entre elle (AUDPC de 12.40 pour *Tagetes patula* et de 8.76 pour *Raphanus sativus*) (**Tableau 19**).

	7	9	11	14	16	18	21	23	25	28	30	32	35	37	39	42
Bloc	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Espèce	**	**	**	**	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	0.039
Densité	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Espèce*Densité	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

Tableau 18 : Résultats des ANOVA des AUDPC des **CC J2** testés sur le modèle suivant :

IFB = effet « Bloc » + effet « Espèce » + effet « Densité » + effet « Densité*Espèce »+ Effet « Espèce*Bloc »+ erreur

Modalité	Moyenne estimée(42)	Groupes
Tagetes patula	4,562	A
Raphanus sativus	2,657	B

Tableau 19 : Test de Newman-Keuls sur les AUDPC des **CC J2** à **J+42** selon le modèle suivant :

AUDPC = effet « Bloc » + effet « Espèce » + effet « Densité » + effet « Densité*Espèce »+ Effet « Espèce*Bloc »+ erreur

(2)

L'analyse statistique relancée sans l'effet « Densité » montre que le facteur « Bloc » n'est pas significatif alors que l'effet « Traitement » est très significatif ($P<0.001$), et qu'à **J+42**, $P=0.009$ (**Tableau 20**). Le test de Newman-Keuls montre que le traitement témoin sol nu T9 ne diffère d'aucun des traitements de plantes de service. Néanmoins, le traitement témoin tomate T16 diffère significativement du radis fourrager (T13 et T14) (**Tableau 21**).

	7	9	11	14	16	18	21	23	25	28	30	32	35	37	39	42
Bloc	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

Traitement	***	**	***	***	***	***	***	***	**	**	**	**	**	**	**	**	0.009
------------	-----	----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	----	----	----	----	----	----	----	----	--------------

Tableau 20 : Résultats des ANOVA des AUDPC sur les CC J2 effectuées pour chaque date

selon le modèle suivant :

$$\text{IFB} = \text{effet « Bloc »} + \text{effet « Traitement »} + \text{erreur}$$

Modalité	Moyenne estimée Rac(AUDPC) (42)	Groupes		
T16	5,544	A		
T12	4,647	A	B	
T11	4,478	A	B	
T15	3,438	A	B	C
T13	3,097		B	C
T14	2,217			C

Tableau 21 : Test de Newman-Keuls des AUDPC sur les CC J2 à J+42 selon le modèle

suivant :

$$\text{IFB} = \text{effet « Bloc »} + \text{effet « Traitement »} + \text{erreur}$$

4) Discussion

a. Comparaison des expériences menées en chambre climatique et en serre

L'expérience menée en serre a permis de montrer que l'effet « scarification » ne jouait aucun rôle dans l'incidence de la maladie ; ceci a pu être confirmé plus tard en serre lors de l'évaluation du potentiel infectieux de la bactérie en J1.

Les résultats en chambre climatique montrent également que le facteur « inoculation artificiel du sol » accélère directement la progression du flétrissement bactérien. Ce facteur n'a pas été pris en compte en serre, car nous voulions travailler en conditions réelles semi-contrôlées, avec du sol infestée naturellement.

b. Evaluation du potentiel infectieux de la bactérie

Ces premiers résultats (jardinières N°1) ont montré que la scarification des plants de tomates n'avait pas d'effet significatif sur le développement du flétrissement bactérien, dans nos

conditions environnementales. Ceci peut s'expliquer par le fait que tous les plants ont subi des blessures au moment de la plantation dans les jardinières T1. Par la suite, nous avons donc décidé de ne pas procéder à la scarification des racines.

L'absence d'effet bloc nous permet de conclure, à ce stade, que la disposition expérimentale spatiale au sein de la serre n'a aucun effet sur l'évolution de la maladie (angle d'ensoleillement, température).

c. Effet des plantes de service

i. Cas des cycles longs (Expérimentation 1)

Date T2 :

-Evaluation du statut hôte des plantes de services

Aucune des plantes à cycle long n'héberge *Ralstonia solanacearum* en demi-phase culturale.

- Evaluation du potentiel assainissant des plantes de services

A **J+41**, aucun effet autre que l'effet « Espèce » ou « Traitement » selon les modèles statistiques lancé (avec ou sans l'effet « Densité ») n'est significatif. Ceci signifie que :

- L'effet « Bloc » reflétant la disposition expérimentale au sein de la serre (exposition au soleil, variation de température possible du centre de la serre à ses extrémités, humidité relativement moins élevée en bout de ligne), n'intervient pas sur la progression de la maladie.

- L'effet « Densité » (à savoir densités simple et double) n'intervient pas dans l'avancée de la maladie. La littérature montrait par ailleurs qu'une forte densité de semis facilitait la progression de la maladie, les plantes étant en contact étroit permanent.

- L'effet « Espèce*Densité » n'a aucun rôle significatif dans l'incidence et la sévérité de la maladie. L'analyse de cet effet avait pour objectif de démontrer qu'une plante pouvait faciliter la multiplication de l'inoculum bactérien selon la densité de semis initiale.

- L'effet « Espèce*Bloc » n'intervient pas dans l'évolution du flétrissement bactérien. L'analyse de ce facteur avait pour but de démontrer que les effets allélopathiques et biofumigants d'une plante pouvaient être influencés selon sa disposition spatiale (exemple : manque de luminosité -> croissance de la plante diminuée -> biomasse plus faible -> effets sur exsudats racinaires et sur les substances biofumigantes après broyage et enfouissement).

(1)

A **J+41**, le modèle statistique lancé avec l'effet « Densité » montre :

-dans le cas de l'IFB que le facteur « Espèce » est significatif ($P=0.004$). L'oignon péyi se distingue des 3 autres plantes de service (Tableau 4). Ceci peut s'expliquer par le fait que cette plante a été trop irriguée et attaquée par des trips. L'affaiblissement de la plante a sans doute permis une multiplication plus importante de l'inoculum bactérien.

-dans le cas de l'AUDPC que le facteur « Espèce » est significatif ($P=0.045$) et qu'il est possible de distinguer l'oignon péyi du Pois Mascate (**Tableau 8**).

- dans le cas de l'IC, que le facteur « Espèce » est significatif ($P=0.029$) et que l'on peut distinguer l'oignon péyi du pois Mascate et de la Crotalaire Juncea (**Tableau 11**).

Ceci démontre qu'à la date ponctuelle finale, l'oignon péyi a eu une incidence plus élevée que les autres traitements, alors que la progression de la maladie pendant toute la période d'observation a été significativement plus importante dans les jardinières d'oignon péyi que dans les jardinières de Pois Mascate. De plus, l'indice de colonisation de l'oignon péyi se différencie significativement de celui du Pois Mascate et de la Crotalaire juncea.

A ce stade de notre étude et avec le modèle (1), nous pouvons juste remarquer que même si l'*Allium sativum* n'héberge pas la bactérie, cette plante semble multiplier l'inoculum bactérien. Le Pois Mascate semble être pour l'instant la plante qui permet de ralentir au mieux la progression de la maladie (AUDPC) comparativement aux 3 autres plantes.

(2)

A **J+41**, le modèle statistique lancé sans l'effet « Densité » montre :

-dans le cas de l'IFB que le facteur « Traitement » est significatif ($P=0.008$). Le test de Newman-Keuls permet de distinguer l'oignon péyi de *Crotalaria juncea* (T4) et de

distinguer l'oignon péyi qu'en densité simple (T7) de *Mucuna deeringiana* en densité double (T2) (**Tableau 6**).

-**dans le cas de l'AUDPC** que le facteur « Traitement » est très significatif ($P=0.001$). De plus, le traitement témoin tomate T10 est clairement distinguable de tous les autres traitements (**Tableau 10**). Ceci s'explique par l'apparition et l'évolution rapides de la maladie, et ce, dès J+7. En effet, à **J+41**, la sévérité du traitement tomate T10 atteint 30.54, alors que celle du traitement sol nu T9 atteint 16.58, celle de T1 9.40, celle de T3 12.87... .

-**dans le cas de l'IC** que le facteur « Traitement » est significatif ($P=0.02$). Néanmoins, aucune distinction entre les plantes et les témoins n'est possible (**Tableau 12**).

Le modèle (2) permet pour l'instant de montrer une rapidité dans l'apparition et dans la progression de la maladie au sein du traitement T10 (AUDPC), s'expliquant par la mise en place antérieure de la culture sensible de tomates. Avec l'intégration des traitements témoins au sein de ce modèle, nous ne pouvons pas distinguer les effets de ces 4 plantes de services entre elles ni entre le traitement témoin Sol Nu T9 (AUDPC). Enfin, à la date finale, la colonisation des plants ne montre pas de différence entre eux. Ceci signifie que la bactérie s'est propagée, à une vitesse différente, mais a atteint le même niveau de colonisation à la date finale.

ii. Cas des cycles courts (Expérimentation 2)

Date T2 :

-Evaluation du statut hôte des plantes de services

Le statut hôte sur les plantes de service a révélé que le radis fourrager n'hébergeait pas la bactérie contrairement à l'œillet d'Inde.

- Evaluation du potentiel assainissant des plantes de services

Dans le cas de l'IFB, à **J+42**, aucun effet autre que l'effet « Espèce » ou « Traitement » selon les modèles statistiques lancé (avec ou sans l'effet « Densité ») n'est significatif. Ceci signifie que :

- L'effet « Bloc » reflétant la disposition expérimentale au sein de la serre (exposition au soleil, variation de température possible du centre de la serre à ses extrémités, humidité relativement moins élevée en bout de ligne), n'intervient pas sur la progression de la maladie.

- L'effet « Densité » (à savoir densités simple et double) n'intervient pas dans l'avancée de la maladie. La littérature montrait par ailleurs qu'une forte densité de semis facilitait la progression de la maladie, les plantes étant en contact étroit permanent.

- L'effet « Espèce*Densité » n'a aucun rôle significatif dans l'incidence et la sévérité de la maladie. L'analyse de cet effet avait pour objectif de démontrer qu'une plante pouvait faciliter la multiplication de l'inoculum bactérien selon la densité de semis initiale.

- L'effet « Espèce*Bloc » n'intervient pas dans l'évolution du flétrissement bactérien. L'analyse de ce facteur avait pour but de démontrer que les effets allélopathiques et biofumigants d'une plante pouvaient être influencés selon sa disposition spatiale (exemple : manque de luminosité -> croissance de la plante diminuée -> biomasse plus faible -> effets sur exsudats racinaires et sur les substances biofumigantes après broyage et enfouissement).

(1)

A **J+42**, le modèle lancé avec l'effet « Densité » a montré un effet significatif du facteur « Espèce ». Ceci permet :

- **Dans le cas de l'IFB** ($P=0.013$), de distinguer précisément l'effet de *Tagetes patula* et de *Raphanus sativus* (**Tableau 15**). Les traitements T11-T12 ont une IFB élevée (98% et 100%) quasiment égale à celle du traitement témoin tomate T16 (100%). De plus, l'œillet présente une incidence de maladie plus élevée que le traitement sol nu T15 (73%). Or, les traitements T13-T14, ont une IFB en deçà des traitements T15 et T16 (respectivement de 68% et 40%).

- **Dans le cas de l'AUDPC** ($P=0.039$), de distinguer également l'effet de *Tagetes patula* et de *Raphanus sativus* (**Tableau 19**). Les traitements T11-T12 ont une AUDPC relative de 20.15 et de 4.65. Les traitements T13-T14 ont une sévérité de maladie moins

disparate de 10.95 et 6.96. De plus, les traitements témoins ont une AUDPC de 30.74 (T16) et de 12.37 (T15). Néanmoins, la distinction entre les 2 plantes est toujours possible.

Le modèle prenant en compte l'effet « Densité » permet donc de comparer les effets des deux plantes testés et de conclure sur le meilleur potentiel assainissant du Radis fourrager comparativement à l'œillet d'Inde.

(2)

A **J+42**, le modèle lancé sans l'effet « Densité » montre :

- **Dans le cas de l'IFB** que la probabilité critique du facteur « Traitement » atteint $P=0.097$. A cette date, aucune distinction n'a été faite entre les différents traitements (**Tableau 17**).

- **Dans le cas de l'AUDPC** que la probabilité critique du facteur « Traitement » est de $P=0.009$. Contrairement aux résultats de l'IFB et malgré la signification du facteur « Traitement » à la date finale, aucune distinction franche ne peut être faite (**Tableau 21**) si ce n'est entre le traitement T16 témoin tomate et le radis fourrager.

Ce modèle permet de conclure sur la différence de la progression de la maladie (cas de l'AUDPC) entre le traitement témoin Tomate (relatif à une monoculture) et le radis fourrager. Ainsi, le radis fourrager semble retarder et ralentir la progression de la maladie, contrairement au traitement témoin tomate et à l'œillet d'Inde. Néanmoins, aucune distinction n'est faite avec le traitement témoin sol nu.

Conclusion de la date T2 :

L'absence des deux modalités de densité pour les traitements témoins tomate et sol (T9, T10 et T15, T16) ne permet pas d'analyser tous les facteurs entre eux simultanément. Nous avons donc pour chaque indice lancé 2 modèles distincts.

Ainsi, afin d'analyser le facteur « Densité », nous avons retiré les traitements témoins. Que ce soient les plantes à cycle court ou long, ce modèle statistique (1) lancé sur l'IFB et l'AUDPC permet à chaque fois de distinguer les Espèces entre elles à savoir :

-Raphanus sativus vs Tagetes patula (Cas de l'IFB et de l'AUDPC)

- *Allium sativum* vs (*Crotalaria spectabilis*, *Crotalaria juncea* et *Mucuna deeringiana*) (Cas de l'IFB) et *Allium sativum* vs *Mucuna deeringiana* (Cas de l'AUDPC).

Néanmoins, ce modèle n'admet aucun traitement témoin, nécessaire pour comparer l'effet du potentiel assainissant des plantes de services vis-à-vis de la mise en place d'une monoculture (Cas de T10 et de T16) ou d'une jachère (cas du sol nu T9 et T15). Avec ce modèle, nous ne pouvons que comparer les plantes de service entre elles. Or, il se pourrait que l'effet du sol nu soit non négligeable et que ce dernier admette un potentiel assainissant relativement plus élevé que certaines plantes de service.

Au stade de notre étude en prenant en compte les deux modèles statistiques, nous pouvons donc montrer pour les plantes à cycle court :

- Que le radis fourrager n'est pas hôte de la bactérie contrairement à l'œillet d'Inde qui semble être tolérante mais qui propage la bactérie.

- Que la propagation de la maladie après une culture de radis fourrager (en densité simple ou double) est significativement moins élevée qu'après une culture de tomate (AUDPC, modèle (2)).

- Qu'aucune distinction n'est pour l'instant possible entre les deux plantes de services et le traitement T9 sol nu que ce soit pour l'IFB que pour l'AUDPC (modèle (2)).

- Que l'œillet d'Inde ne se distingue pas du traitement témoin Tomate (modèle (2), AUDPC).

De même, nous pouvons montrer que pour les plantes à cycle long :

- qu'aucune d'entre elles n'héberge la bactérie.

- que l'oignon péyi semble faire progresser davantage la maladie que le pois Mascate (AUDPC, modèle (1)).

- qu'il est possible de distinguer toutes les plantes de services entre elles et le traitement témoin Tomate mais pas avec le traitement témoin Sol Nu (AUDPC, modèle (2)).

En conclusion, l'œillet d'Inde est pour l'instant la seule plante ne présentant aucun avantage en tant que plante de service. Bien que tolérante, elle semble multiplier l'inoculum bactérien, de plus, elle ne se distingue pas des traitements témoins Tomate et Sol Nu.

De plus, pour l'instant, nous ne pouvons pas scinder les 5 autres plantes de services entre elle si l'on prend en compte :

- le statut hôte de ces plantes : aucune n'héberge la bactérie ;
- aucune ne se distingue du traitement sol nu ;
- toutes se distinguent du traitement témoin tomate.

S'il est décidé de ne pas pratiquer de culture avant le semis d'une plante de service (modélisation en T9 : exemple d'une jachère), aucune des plantes de service ne présente, au stade de notre étude, de potentiel assainissant plus performant que la mise en place d'une jachère. Le désherbage systématiquement effectué dans toutes les jardinières a sans doute un rôle non négligeable dans l'effet du traitement T9. En effet, toutes les adventices ont été arrachés afin de ne pas rentrer en compétition avec les plantes de services et les plants de tomates, au début de leur stade de croissance. Les adventices ont été également arrachées dans les jardinières du traitement T9 « Sol nu ». Nous pouvons émettre l'hypothèse que cette action a permis une diminution de l'inoculum. Ceci peut donc expliquer le fait que la maladie dans les jardinières T9 progresse de la même façon que celles contenant des plantes de service. Néanmoins, à l'heure actuelle, la monoculture de tomates est toujours présente en Martinique. Même s'il fortement déconseillé de la pratiquer, 3 à 4 cycles de tomates peuvent être effectués sur une année. Les plantes de services candidates montrent, au stade de notre étude, qu'il est préférable de semer une culture préalable en rotation afin de limiter l'apparition et la multiplication rapide de l'inoculum bactérien. Les plantes de services (légumineuses, brassicacées) présentent également l'avantage de lutter contre l'érosion du sol et de le fertiliser en matières organique et minérale, mais également une valeur économique relative.

ANNEXES

Liste des figures :

Figure 1 : La diversification agricole martiniquaise et les pourcentages en SAU des différentes cultures, source Agreste, 2005

Figure 2 : Répartition des populations historiques (phylotypes I et II) et émergente (phylotype II/4NPB) de *Ralstonia solanacearum* en Martinique (Wicker, 2005)

Figure 3 : Plants de tomates atteints de flétrissement bactérien avec épinastie des feuilles (source PRPV)

Figure 4 : Présence de galles sur l'appareil racinaire d'un plant de tomate (source, université de Liège)

Figure 5 : L'espèce *Tagetes patula*
(photo : équipe de phytopathologie du PRAM)

Figure 6 : Les espèces *Crotalaria juncea* (à gauche) et *Crotalaria spectabilis* (à droite)
(photo: équipe de phytopathologie du PRAM)

Figure 7 : L'espèce *Mucuna deeringiana*
(photo: équipe de phytopathologie du PRAM)

Figure 8 : L'espèce *Raphanus sativus*
(photo: équipe de phytopathologie du PRAM)

Figure 9 : L'espèce *Allium fistulosum*
(photo : équipe de phytopathologie du PRAM)

Figure 10 : Plants de tomates en chambre climatique (équipe de phytopathologie, PRAM)

Figure 11 : Plan du dispositif/ Répétitions et limites des blocs pour les plantes à cycle long & cycle court

Figure 12 : Etalage de la solution bactérienne sur boîte de Pétri

Figure 13: Boîtes de Pétri ensemencées à 28° C, traitements tomates témoins (photo 1) et traitements avec plante de services (photo 2)

Figure 14 : Dégâts de chenilles sur *Crotalaria spectabilis* (Photo 1) et dégâts de thrips sur *Allium fistulosum* (Photo 2), équipe phytopathologie du PRAM

Figure 15 : Suivi de l'IFB **CL J1** selon l'effet scarification

Figure 16 : Suivi de l'IFB **CL J1** selon le facteur bloc

Figures 17 et 18: Suivi de la sévérité de la maladie sur les plants de tomates **CL J1** selon les facteurs « scarification » et « bloc »

Figure 19 : Indice de colonisation sur les plants de tomates **CL J1** selon les effets bloc et scarification

Figure 20 : Nombre de colonies **CL J2** selon l'effet « bloc » et « traitement »

Figure 21 : Incidence de flétrissement bactérien dans les jardinières **CL T2** selon l'effet bloc

Figure 22 : Incidence de flétrissement bactérien dans les jardinières **CL T2** en densité simple et double

Figure 23 : Suivi de l'AUDPC des **CL J2** selon l'effet bloc

Figure 24 : Suivi de l'AUDPC des **CL J2** selon l'effet traitement

Figure 25 : Indice de colonisation des **CL J2**

Figure 26 : Incidence de flétrissement bactérien des **CC J1** selon l'effet bloc

Figure 27 : Evolution de l'IFB des **CC J1** selon l'effet scarification

Figure 28 : Evolution de l'AUDPC des **CC J1** selon l'effet scarification

Figure 29 : Evolution de l'AUDPC des **CC J1** selon l'effet bloc

Figure 30 : Indice de colonisation sur les plants de tomates des **CC J1** selon les effets bloc et scarification

Figure 31 : Evaluation du statut hôte des **CC J2** selon l'effet traitement

Figure 32 : Evaluation du statut hôte des PdS CC J2 selon l'effet bloc

Figure 33 : Suivi de l'IFB CC J2 selon les effets « bloc » et « traitement »

Figure 34 : Evolution de l'AUDPC des CC J2 selon l'effet bloc

Figure 35 : Evolution de l'AUDPC des CC J2 selon l'effet traitement

Liste des Tableaux :

Tableau 1 : Evolution des prix au kilo depuis 2004 (source FREDON)

Tableau 2 : Résultats des ANOVA effectuées pour chaque date selon le modèle suivant :

IFB = effet 'scarification' + effet 'inoculation' + effet 'scarification*inoculation' + erreur

Tableau 3 : Résultats des ANOVA des AUDPC des **CL J2** testés sur le modèle suivant :

IFB = effet « Bloc » + effet « Espèce » + effet « Densité » + effet « Densité*Espèce »+ Effet « Espèce*Bloc »+ erreur

Tableau 4 : Test de Newman-Keuls des IFB à **J+41** des **CL J2** sur l'effet espèce selon le modèle suivant :

IFB = effet « Bloc » + effet « Espèce » + effet « densité » + effet « Densité*Espèce »+ Effet « Espèce*Bloc »+ erreur

Tableau 5 : Résultats des ANOVA des IFB sur les **CL J2** effectuées pour chaque date selon le modèle suivant :

IFB = effet « Bloc » + effet « Traitement » + erreur

Tableau 6 : Test de Newman-Keuls des IFB à **J+41** sur les **CL J2** selon le modèle suivant :

IFB = effet « Bloc » + effet « Traitement » + erreur

Tableau 7 : Résultats des ANOVA des AUDPC sur les **CL J2** effectuées pour chaque date selon le modèle suivant : IFB = effet « Bloc » + effet « Espèce » + effet « Densité » + effet « Espèce*Densité »+ effet « Espèce*Bloc »+ erreur

Tableau 8 : Test de Newman-Keuls des AUDPC sur les **CL J2** à **J+41** selon le modèle suivant :

IFB = effet « Bloc » + effet « Espèce » + effet « Densité » + effet « Espèce*Densité »+ effet « Espèce*Bloc »+ erreur

Tableau 9 : Résultats des ANOVA des AUDPC des **CL J2** effectuées pour chaque date selon le modèle suivant : IFB = effet « Bloc » + effet « Traitement » + erreur

Tableau 10 : Test de Newman-Keuls des AUDPC à **J+41** des **CL J2** selon le modèle suivant :

IFB = effet « Bloc » + effet « Traitement » + erreur

Tableau 11 : Test de Newman-Keuls des AUDPC sur les **CL J2** : Comparaison des modalités de l'effet espèce selon le modèle suivant : IFB = effet « Bloc » + effet « Espèce » + effet « Densité » + effet « Espèce*Densité »+ effet « Espèce*Bloc »+ erreur

Tableau 12 : Test de Newman-Keuls des AUDPC sur les **CL J2** : Comparaison des modalités de l'effet espèce selon le modèle suivant : IFB = effet « Bloc » + effet « Traitement »+ erreur

Tableau 13 : Test de Newman-Keuls : Comparaisons des modalités de l'effet traitement pour les **CC J2** selon le modèle suivant : Log (CFU Rs/g plante)= Effet « Bloc »+Effet « Traitement »+ Effet « Bloc*Traitement »+ erreur

Tableau 14 : Résultats des ANOVA des IFB sur les **CC J2** testés sur le modèle suivant :

IFB = effet « Bloc » + effet « Espèce » + effet « Densité » + effet « Densité*Espèce »+ Effet « Espèce*Bloc »+ erreur

Tableau 15 : Test de Newman-Keuls des IFB sur les **CC J2** à **J+42** selon le modèle suivant :

IFB = effet « Bloc » + effet « Espèce » + effet « Densité » + effet « Espèce*Densité »+ effet « Espèce*Bloc »+ erreur

Tableau 16 : Résultats des ANOVA des IFB sur les **CC J2** effectuées pour chaque date selon le modèle suivant : IFB = effet « Bloc » + effet « Traitement » + erreur

Tableau 17 : Test de Newman-Keuls des IFB sur les **CL J2 à J+42** selon le modèle suivant :

IFB = effet « Bloc » + effet « Traitement » + erreur

Tableau 18 : Résultats des ANOVA des AUDPC des **CC J2** testés sur le modèle suivant :

IFB = effet « Bloc » + effet « Espèce » + effet « Densité » + effet « Densité*Espèce » + Effet « Espèce*Bloc » + erreur

Tableau 19 : Test de Newman-Keuls sur les AUDPC des **CC J2 à J+42** selon le modèle suivant :

AUDPC = effet « Bloc » + effet « Espèce » + effet « Densité » + effet « Densité*Espèce » + Effet « Espèce*Bloc » + erreur

Tableau 20 : Résultats des ANOVA des AUDPC sur les **CC J2** effectuées pour chaque date selon le modèle suivant : IFB = effet « Bloc » + effet « Traitement » + erreur

Tableau 21 : Test de Newman-Keuls des AUDPC sur les **CC J2 à J+42** selon le modèle suivant :

IFB = effet « Bloc » + effet « Traitement » + erreur

Annexe 1 :BIBLIOGRAPHIE

Livres:

- **Biopesticides d'origine végétale**, Regnault-Roger C., Philogène B.J.R., Vincent C., 2008
- **How complex is the “*Ralstonia solanacearum* species complex”?** , Fegan, Prior, 2005, In Allen Bacterial wilt disease and the *Ralstonia solanacearum* species complex, p.449-461
- **Enquête phytosanitaire 2006 sur la situation de la tomate par rapport aux bégomovirus, au flétrissement bactérien et à la fatigue des sols**, Renarzewski A., 2006, FREDON Martinique

Sites internet:

-Fiche technique, chambre d'agriculture de la Martinique

- La biofumigation : une méthode de lutte contre les maladies du sol, Michel V., Ahmed H., Dutheil A, 2007, Revue Suisse Vitic. Arboric. Hortic. Vol. 39, 145-150

*http://www.agroscope.admin.ch/data/publikationen/ch_pv_07_pub_RSVAH_39_2_1_45-150_f.pdf:

- La lutte biologique contre les nématodes phytoparasites, Jean Claude Cayrol ; Caroline Djian Caporalino, Elisabeth Panchaud Mattei :

* <http://andre.emmanuel.free.fr/brf/articles/inra-3.pdf>.

Source FAO : <http://www.fao.org/ag/AGP/AGPC/doc/GBASE/data/pf000475.htm>

Source CGSTE : <http://www.cgste.mq/agriculture/territoire/rapport.PDF>)

Articles scientifiques:

-**Comparative behavior of *Ralstonia solanacearum* Biovar 2 in diverse plant species**, Alvarez B., Le-Courtois V., Vasse V., Trigalet-Démery D., Lopez M.M. et Trigalet A., 2007, Phytopathology, 98 :59-68

-**Propriétés des Alliacés : Biodésinfection des sols maraîchers au moyen d'oignon et de poireau**, Arnault I., André I., Diwo-Allain S., Auger J., Vey F., 01/2005, La défense des végétaux, Num 578

- Using Brassica spp as Biofumigants to reduce the populations of *Ralstonia solanacearum***, J.R. Arthy, E.B. Akiew, J.A. Kirkegaard, P.R Trevorrow, 2002, Proceeding of the 3rd International Bacterial Wilt Symposium
- Insecticidal and fungicidal potential of Allium substances as biofumigants**, Auger J., Arnault I., Diwo-Allain S., Ravier, M., Molia F., Petit M., 2004, Agroindustria, Vol 3 Num 3
- **Antibacterial effect of Allium sativum and Ficus carica extracts on tomato bacterial pathogens**, Balestra G.M., Heydari A., Ceccarelli D., Quattrucci A., 2009, Crop Protection 28, 807-811
- **Glucosinolate containing seed meal as a soil amendment to control plant pests**, 2005, Brown J., Morra M.J., National Renewable Energy Laboratory
- **Influence de Meloidogyne arenaria sur la sensibilité de deux cultivars de tomates à Pseudomonas solanacearum dans les Antilles Françaises**, Cadet P., Prior P., Steva H., 1989, L'agronomie Tropicale, 44,263-8
- **Gestion des nématodes à galles : Luttés conventionnelles et luttés alternatives. L'atout des plantes pièges**. Djian-Caporalino C., Védié H., Arrufat A., 2009, Phytoma
- Control of tomato bacterial wilt through the incorporation of aerial part of pigeon pea and crotalaria to soil**, Susane C. Cardoso; Ana Cristina F. Soares, Alexsandro dos S. Brito, Francisco F., Laranjeira Carlos Alberto S., Ledo Andiale P. dos Santos, Jan./Mar. 2006, Summa Phytopathology, Vol.32 Num.1
- **The influence of root exudates of *Cloris gayana* and *Tagetes patula* on *Rotylenchulus reniformis***, Caswell E.P., Tange C.S, de Franck J, 1990, revue de Nématologie, 14 :581-587
- **Increased susceptibility to bacterial wilt by tomatoes by nematod galling and the role of the Mi gene in the resistance to nematodes and bacterial wilt**, Deberdt P. Quénéhervé P., Darrasse A., Prior P., 1999, Plant Pathology, 48, 408-414
- **Reconnaissance du flétrissement bactérien des Solanées aux Antilles françaises**, Digat B., Escudié A., 1967, Phytatrie-Phytopharmacie, Vol. 16, 187-197
- Potential of Crotalaria species as green manures crops for the management of pathogenic nematodes and beneficial mycorrhizal fungi**, Germani G., Plenchette C., 2004, Plant and Soil, 333-342
- Biofumigation-using Brassica species to control pests and diseases in horticulture and agriculture**, Kirkegaard, J.A., Gardner, P.A., Desmarchelier, J.M, Angus, J.F., 1993
- **Understanding the mechanisms of plant pest suppression using Brassicas green manures**, John Kirkegaard et al., 2008, Third International Biofumigation Symposium

- **Antimicrobial activities of sulfur compounds derived from S-alk(en)yl-L-cysteine sulfoxide in Allium and Brassica**, Kyung K.H. et Lee Y.C, Foods Reviews International, 2001, Vol. 17, 183-198
- **Thiophene occurrence in different tagetes species: agricultural biomasses as sources of biocidal substances**, Marotti I., Marotti M., Piccaglia R., Nastri A., Grandi S., Wiley Interscience, 2010,
- **Tropical rotation crops influence nematode densities and vegetable yields**, McSorley R., Dickson D.W., de Brito J.A., Hochmuth R.C., Journal of Nematology, 1994, 226(3):308-314
- **Biofumigation for controlling root diseases on carrot**, Montfort F., Breton D., 2009, INRA le Rheu, ENDURE
- **Evaluating Brassicas species as an alternative control measure for root-knot nematodes in Georgia vegetable plasticulture**, Montfort W.S., Csinos A.S., Desaegeer J., Seebold K. Webster T.M., Diaz-Perez J.C., 2007, Crop Protection, Vol. 17, Issue 9, 1359-1368
- **Mechanisms of nematode suppression by organic soil amendments**, Oka Y., Applied Soil Ecology, 2010, 101-115
- **Effect of Temperature on Suppression of *Meloidogyne incognita* by Tagetes Cultivars**, Ploeg A.T. and Paulus C. Maris, 1999, Journal of Nematology, 31(4S): 709–714
- **Effect of selected marigolds varieties on root-knot nematods and tomato and melon yields**, Ploeg A.T., 2002, Plant Disease, 86:505-508
- **Effect of *Crotalaria spectabilis* and *sesbania exaltata* on plant nematode populations and subsequent yield of snap beans and cabbage.**, Rhoades H.L 1964
- **Crop rotation studies with velvetbean(*Mucuna deeringiana*) for the management of *Meloidogyne* spp**, Rodriguez-Kabana R., Pinochet J., Robertson D.G., and L. Wells, 1992, Supplement to Journal of Nematology, 662-668
- **Evaluation of the herbicidal and nematicidal activities of DMDS- a potential alternative to methyl bromide**, Rodriguez Kabana R., NC
- **Brassicaceous and rye cover crops altered free-living nematode community composition**, Stocking Gruver L., Weil R.R., Zasada I.A., Sardanelli S., Momen B., 2010, Applied soil ecology, Vol. 45, 1-12
- **The suppression of *Ralstonia solanacearum* by marigolds**, Terblanche J., de Villiers D.A., Bacteria Wilt Disease, 2002, 325-331
- **The use of a biologically active rotation crop for the suppression of Rs in soils used for tobacco production**, Terblanche, 2002, Agricultural Research Council

- **Marigolds as biological control agent of bacterial wilt caused by *R. solanacearum*, chpt3**, Terblanche, 2007

- Evaluation of crops for rhizosphere suppression of *R. solanacearum*, chpt 2**, Terblanche, 2007

- **Shifts in soil microflora induced by velvetbean (*Mucuna deeringiana*) in cropping systems to control root-knot nematodes**, Vargas-Ayala R ;, Rodriguez-Kabana R., Morgan-Jones G., McInroy J.A., Kloepper J.W., 2000, Biological control, 17,11-22

- **Crotalaria as a cover crop for nematode management: a review**", Wang K.H, Sipes B.S, Schmitt B.P, 2002, Nematropica, Vol. 32:35-57

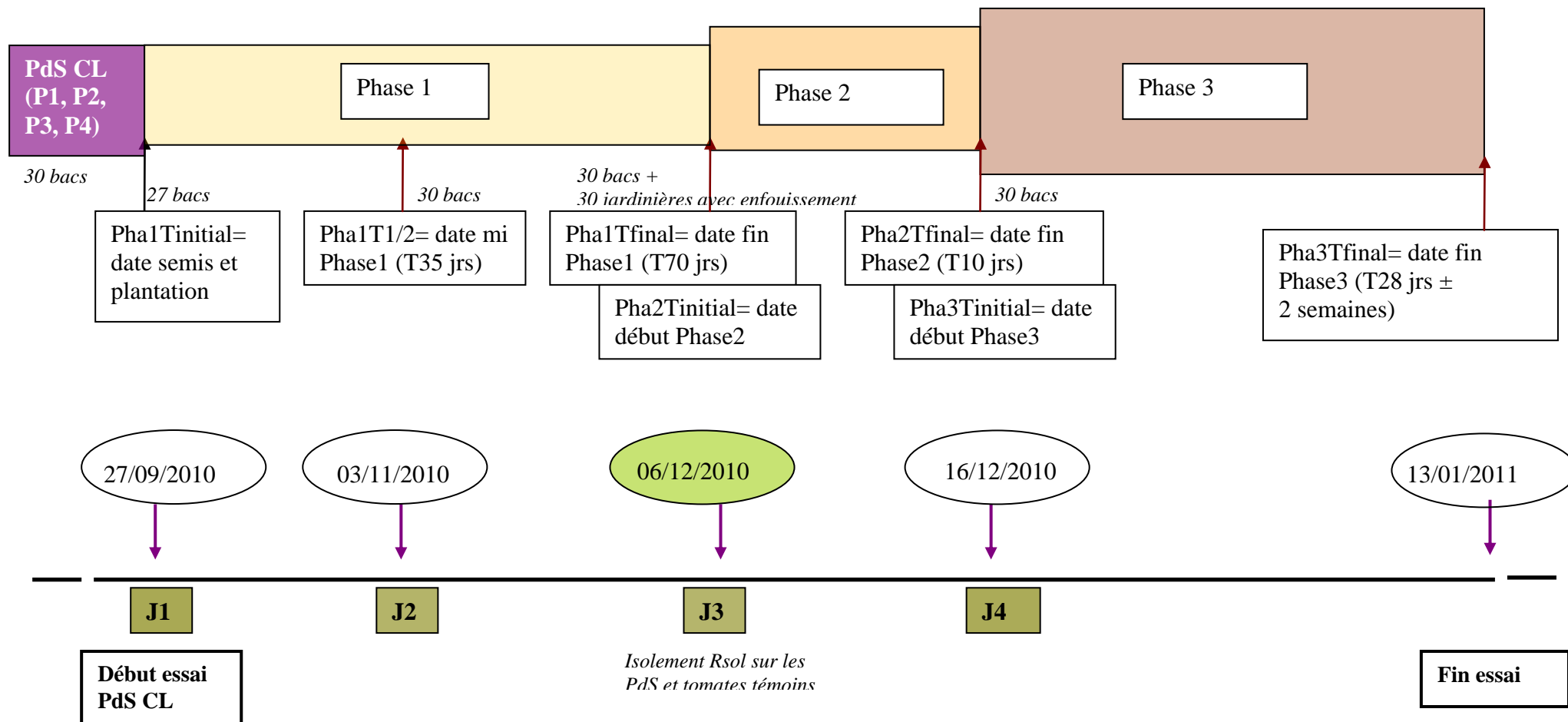
- Effect of Crotalaria juncea amendment on nematode communities in soil with different agricultural histories**, Wang K.H., Mc Sorley R., Gallaher R.N., 2003, Journal of Nematology, 294-301

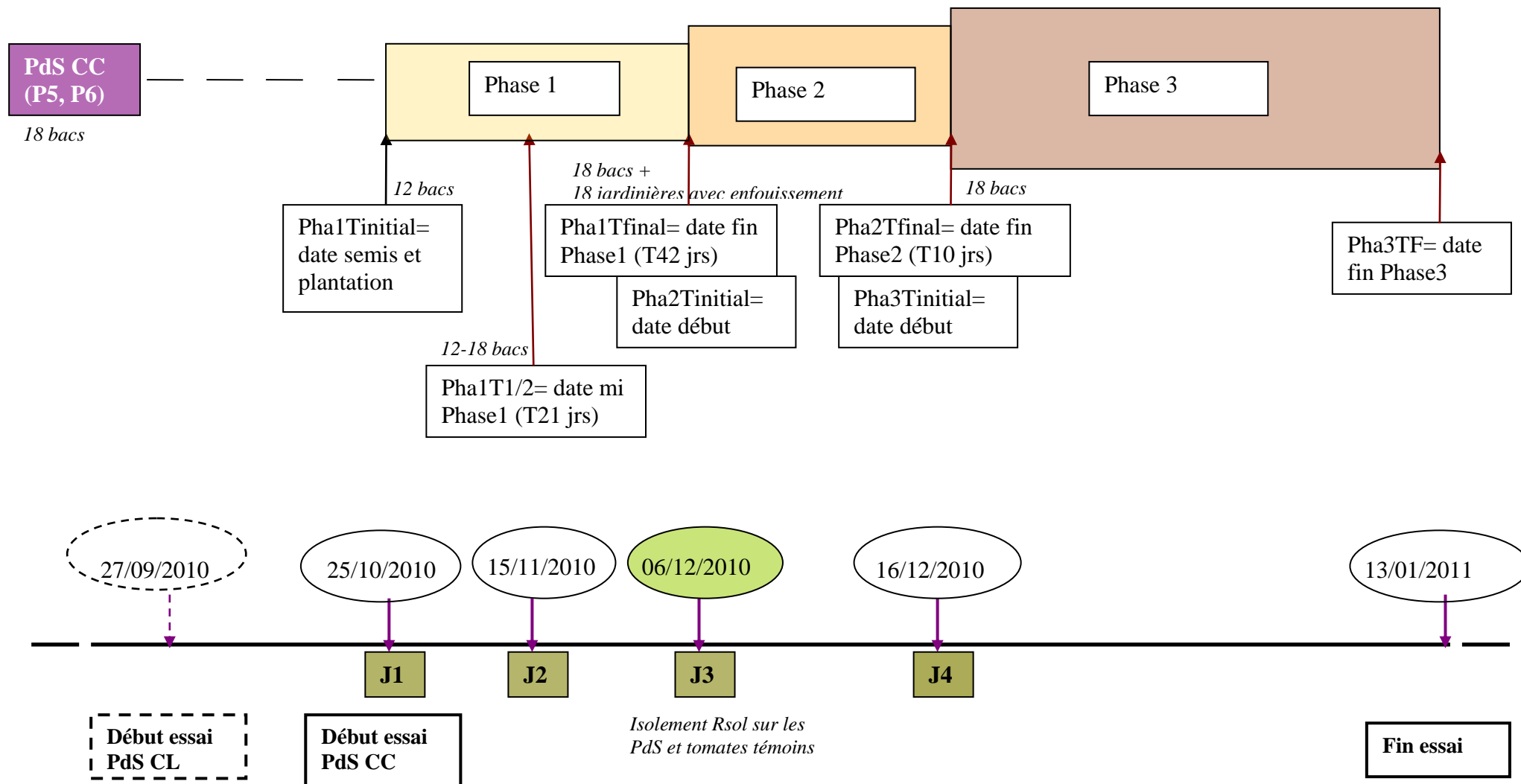
- **Ralstonia solanacearum strains form Martinique exhibiting a new pathogenic potential**", E. Wicker, Grassart L., Coranson-Beaudu R., Mian D., Guilbaud C., Fegan M., Prior P, 2007, American Society fro Microbiology, Vol 73, Num 21

- Epidemiological evidence for the emergence of a new pathogenic variant of R s in Martinique**, E. Wicker, Grassart L., Coranson-Beaudu R., Mian D., Prior P., 2009, Plant Pathology

- **Allelopathic suppression of Pseudomonas solanacereaum of tomato in tomato-chinese chive intercropping system**, Yu J.R.,1999; Journal American Chemical Society, 69-723

Annexe 2 : Dates échantillonnage & transplantation





PdS CL= PdS Cycle Long = *Mucuna deeringiana* “Singapour”, *Crotalaria juncea* cv. IAC-1, *Crotalaria spectabilis* “Brésil”

PdS CC = PdS Cycle Court= *Raphanus sativus* cv. Melody, *Tagetes patula*, *Allium fistulosum*

J = Jardinières correspondent à chaque date de Transplantation des tomates Heatmaster

